

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1933-1934

N° 25

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE TOXICOLOGIQUE DU CHROME

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

Docteur de l'Université de Paris (PHARMACIE)

présentée et soutenue le juillet 1934

PAR

Daniel BRARD

Pharmacien

Assistant de Toxicologie à l'Institut d'Hygiène industrielle
et de Médecine du Travail de la Faculté de Médecine de Paris

JURY { MM. TASSILLY, *Président.*
FABRE, *Professeur.*
BEDEL, *Agrégé.*

PARIS

HERMANN & C^{ie}, ÉDITEURS

6, Rue de la Sorbonne, 6

1934

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1933-1934

N° 25

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE TOXICOLOGIQUE DU CHROME

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE

Docteur de l'Université de Paris (PHARMACIE)

présentée et soutenue le juillet 1934

PAR

Daniel BRARD

Pharmacien

Assistant de Toxicologie à l'Institut d'Hygiène industrielle
et de Médecine du Travail de la Faculté de Médecine de Paris

JURY { MM. TASSILLY, *Président.*
FABRE, *Professeur.*
BEDEL, *Agrégé.*

PARIS

HERMANN & C^{ie}, ÉDITEURS

6, Rue de la Sorbonne, 6

1934

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. GUÉRIN, *Doyen*, O. ✱, ☉ I.
P. LEBEAU, *Assesseur*, O. ✱, ☉ I.
P. DESPORT, *Secrétaire*, ✱, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. GUÉRIN, O. ✱, ☉ I.	Botanique générale.
BÉHAL, Membre de l'Institut, G. O. ✱, ☉ I.	Chimie organique.
PERROT, O. ✱, ☉ I.	Histoire naturelle des Médicaments.
COUTIÈRE, O. ✱, ☉ I.	Zoologie.
LEBEAU, O. ✱, ☉ I.	Pharmacie chimique.
BOUGAULT, ✱, ☉ I.	Chimie analytique.
GORIS, ✱, ☉ I.	Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. ✱, ☉ I.	Physique.
DAMIENS, ✱, ☉ I.	Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. ✱, ☉ I.	Chimie biologique.
SOMMELET, ✱, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
LUTZ, O. ✱, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, ✱, ☉ I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. ✱, ☉ I.	Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. ✱, ☉ I.

Professeurs honoraires : MM. DELÉPINE, O. ✱, ☉ I. et GUERBET, ✱, ☉ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. MARC HONNORAT, ✱, ☉ I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LAUNOY, O. ✱, ☉ I.	Pharmacodynamie.
DELABY, ✱, ☉ I.	Minéralogie.
PICON, ☉ I.	Chimie minérale.
BACH, ☉ I.	Microbiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY, ✱, ☉ A.	MM. MASCRÉ, ☉ I.	MM. BEDEL, ☉ I.
PICON, ☉ I.	FLEURY, ☉ I.	RÉGNIER, ☉ I.
	BACH, ☉ I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL, ☉ I., agrégé, chargé des T. P. de 1 ^{re} année.	Chimie générale.
FLEURY, ☉ I. et RÉGNIER, ☉ I. : agrégés, chargés des travaux de	Chimie analytique.
SOUÈGES, ☉ I.	Micrographie.
LEROUX, ☉ I.	Physique.
DEVAL, ✱, ☉ I.	Microbiologie.
DELABY, ✱, ☉ I., PICON, ☉ I. et MASCRÉ, ☉ I. : agrégés, chargés des Travaux généraux de 4 ^e année.	

Bibliothécaire en Chef : M. BERNARD, ☉ I.



A MES PARENTS

Je dédie ce travail.

A M. LE PROFESSEUR RENÉ FABRE

Professeur de Toxicologie à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Professeur de Toxicologie à l'Institut d'Hygiène industrielle
et de Médecine du Travail de la Faculté de Médecine de Paris,
Pharmacien en Chef du groupe hospitalier Necker-Enfants-Malades,
Chevalier de la Légion d'honneur.

*Hommage de profonde reconnaissance et
de respectueux attachement.*

A M. LE PROFESSEUR E. TASSILLY

Professeur de Physique à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Officier de la Légion d'honneur.

A M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ BEDEL

Hommage respectueux.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INTRODUCTION

M. le Professeur René FABRE en nous donnant comme but de nos recherches, l'étude toxicologique des dérivés du chrome, nous a permis d'apporter une modeste contribution à une branche de la Toxicologie qui tend à prendre de plus en plus une place prépondérante ; nous voulons parler de la Toxicologie industrielle.

Pour beaucoup d'esprits non avertis, l'étude toxicologique des dérivés du chrome peut paraître d'un intérêt tout à fait secondaire. Il en est ainsi si l'on se place seulement sur le plan Toxicologie criminelle ou accidentelle. Mais en Toxicologie industrielle, le chrome et ses dérivés ont une importance beaucoup plus grande (Ainsi le chrome vient au deuxième rang en Allemagne, au point de vue du nombre des intoxications professionnelles déclarées pour les années 1918, 1920, 1924, 1925 et 1926).

L'emploi du chrome pour le tannage des peaux, le chromage électrolytique, pour la préparation des aciers chromés inoxydables, des jaunes de chrome employés en peinture, ou pour le mordantage en teinturerie, a occasionné chaque année un grand nombre d'intoxications des ouvriers manipulant les dérivés du chrome.

A un certain point de vue, notre étude peut être considérée comme ayant une valeur plutôt théorique que pratique, qui aurait nécessité une étude médicale des sujets intoxiqués dans l'industrie. Nous nous sommes attaché à suivre le sort du chrome dans l'organisme et à essayer d'expliquer le mécanisme des accidents et des lésions constatés, en opérant expérimentalement sur les animaux.

Nous n'avons pas la prétention de croire que ces recherches permettront de supprimer ou même de diminuer les accidents industriels dus aux dérivés du chrome ; la solution est uniquement une question d'hygiène et d'aération des ateliers.

Notre travail comporte d'abord une partie analytique assez étendue. Les méthodes courantes de recherche et de dosage du chrome dans les viscères ne sont pas très sensibles. Voici ce que dit à ce sujet M. KOHN-ABREST, dans son *Traité de Toxicologie* : « La recherche des traces de chrome dans les viscères est des plus délicates et donne lieu à de nombreuses incertitudes » [65].

Nos premiers efforts ont tendu à mettre au point un microdosage aussi simple et rapide que possible, pouvant être adapté à la recherche et au dosage du chrome après destruction des tissus. Dans une étude de cet ordre il fallait une technique de dosage de grande sensibilité de façon à pouvoir suivre les moindres traces du métal.

Nous avons adopté la méthode nitro-sulfo-perchlorique de E. Kahane, comme donnant les meilleurs résultats pour la destruction des matières organiques et avons étudié le sort du chrome au cours de la destruction. Nous avons constaté que cette méthode ne donnait sensiblement lieu à aucune perte.

D'autre part, nous avons mis au point deux techniques de recherche et de dosage du chrome, l'une volumétrique, l'autre colorimétrique ; cette dernière permet de retrouver des quantités de chrome de l'ordre du millième de milligramme.

En possession d'une technique précise et sensible de dosage, nous avons fait différentes recherches de toxicologie animale en utilisant divers dérivés du chrome. Nous avons recherché la localisation du toxique, les lésions qu'il provoquait et ses voies d'élimination.

Une partie de nos recherches de Toxicologie expérimentale ont pu être effectuées aux Etablissements Byla, grâce à l'amabilité de M. PÉNAU. Nous sommes heureux d'adresser à M. PÉNAU, Directeur des Etablissements Byla, nos sentiments de vive reconnaissance.

Ces essais ont été effectués avec l'aide de M^{lle} RÉGNIER que nous assurons de notre amicale gratitude.

Une autre partie de nos recherches expérimentales a été effectuée à l'Institut Médico-Légal grâce à la bienveillance de M. le Doyen BALTHAZARD, Professeur de Médecine légale à la Faculté de Médecine de Paris, Directeur de l'Institut médico-légal et Directeur de l'Institut d'Hygiène industrielle et de Médecine du Travail, qui a bien voulu mettre à notre disposition les ressources de son laboratoire.

A M. le Professeur BALTHAZARD, à M. le Professeur agrégé Du-

voir et à M. le Professeur agrégé PIEDELIÈVRE nous exprimons notre vive reconnaissance.

Nous exprimons nos vifs remerciements à M. le Professeur René FABRE, Professeur de Toxicologie à la Faculté de Pharmacie et à l'Institut d'Hygiène industrielle et de Médecine du Travail de la Faculté de Médecine de Paris, pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son laboratoire. Nous tenons à lui témoigner notre gratitude pour la bienveillance qu'il nous a toujours montrée et pour les conseils avisés qu'il a bien voulu nous donner et qui nous ont permis de mener à bien ce travail. Nous le remercions sincèrement d'avoir bien voulu considérer nos recherches comme suffisantes pour constituer notre Thèse de Doctorat en Pharmacie et nous le prions d'agréer l'expression de nos sentiments respectueux de vive reconnaissance.

A M. le Professeur TASSILLY, Professeur de Physique à la Faculté de Pharmacie de Paris, qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider notre jury, et à M. BEDEL, Professeur agrégé à la Faculté de Pharmacie de Paris qui a accepté de faire partie de notre jury de thèse, nous adressons l'expression de notre reconnaissance.

M. Paul CHÉRAMY, Pharmacien des Hôpitaux et Assistant de Toxicologie de la Faculté de Pharmacie, a mis à notre disposition ses conseils et toutes les ressources du laboratoire. Nous lui exprimons notre vive reconnaissance.

M. E. KAHANE, Chef des travaux pratiques de Toxicologie de l'Institut d'Hygiène industrielle et de Médecine du travail de la Faculté de Médecine de Paris, nous a, à plusieurs reprises, aidé de ses conseils. Nous lui en sommes vivement reconnaissant et le prions d'accepter nos remerciements sincères.

Nous remercions vivement le Conseil de la Faculté pour le legs Moissan qui nous a été attribué pour l'année 1933-1934 et qui nous a permis de mener à bien ce travail.

Nous assurons de notre bon souvenir nos camarades de laboratoire : M^{me} GAUDUCHON, M^{me} SCHIFFERLI, MM. ANTOINE, CLICHE, COUPECHOUX, COUTURIER, LAURIAN, LOBO, MACCARIO, POURTOY, SCHIFFERLI, STEFANESCO, avec qui nous avons entretenu, durant notre séjour au laboratoire, les relations les plus cordiales.

* * *

Notre travail comporte tout d'abord un chapitre de généralités, suivi d'une première partie technique divisée en chapitres puis d'une deuxième partie de toxicologie expérimentale, et enfin de conclusions.

Généralités sur le chrome en toxicologie.

PREMIÈRE PARTIE : *Technique analytique.*

Recherche qualitative du chrome par voie chimique.

Dosage du chrome :

a) techniques antérieures ;

b) techniques proposées.

Destruction de la matière organique.

Entraînement du chrome au cours de la destruction de la matière organique.

Techniques de recherche et de dosage toxicologiques du chrome.

DEUXIÈME PARTIE : *Toxicologie expérimentale.*

Intoxications aiguës :

a) au bichromate ;

b) aux sels chromiques.

Intoxications chroniques :

a) au bichromate ;

b) aux sels chromiques.

CONCLUSIONS.

GÉNÉRALITÉS

LE CHROME EN TOXICOLOGIE

En 1834, un ouvrier ayant voulu empoisonner un camarade avec du bichromate de potassium, fut acquitté, les médecins-experts ayant conclu à la non toxicité de ce sel.

Un siècle plus tard la toxicologie des dérivés du chrome est encore mal connue.

Les dangers que pouvaient présenter les dérivés du chrome, étaient à ce point méconnus, qu'ils ont été longtemps employés en thérapeutique dans de nombreuses affections sans que l'on veuille reconnaître leurs effets néfastes.

A côté des intoxications thérapeutiques, devenues à peu près nulles, à l'heure actuelle, on trouve dans la littérature certains cas d'intoxications accidentelles, ou criminelles et aussi certains cas de suicides.

Toutefois, ces sortes d'intoxications sont peu nombreuses, par rapport aux accidents professionnels constatés dans certaines industries chez les ouvriers manipulant les dérivés du chrome.

Toutes ces questions sont d'ailleurs liées intimement. L'emploi thérapeutique de l'acide chromique et des bichromates a été effectué à la suite de la constatation des propriétés caustiques de ces composés sur les tissus vivants et des lésions constatées chez les ouvriers. Cette propriété caustique, appliquée en premier par CUMIN [11], pour la destruction des verrues, a conduit à utiliser ensuite les bichromates et l'acide chromique pour la résorption des excroissances d'une façon générale et en particulier des excroissances d'origine syphilitique. Les résultats favorables obtenus par ce procédé ont ensuite fait penser à administrer les dérivés du chrome par voie interne contre les accidents secondaires de la syphilis.

C'est la nature des premiers accidents constatés chez les ouvriers, qui a guidé l'utilisation des dérivés du chrome en thérapeutique. Ces accidents sont devenus beaucoup plus nombreux depuis l'emploi étendu du chrome et de ses dérivés dans l'industrie.

Nous ne ferons que citer rapidement les usages industriels du chrome et, en particulier, ceux qui sont susceptibles de donner lieu à des intoxications professionnelles.

Tout d'abord la *préparation du chrome et de ses dérivés* (chromates, bichromates, acide chromique) a donné lieu à de nombreux accidents dont nous donnerons le détail par la suite. Ces composés tirent leur importance de leur emploi comme intermédiaires pour la préparation de nombreux produits chimiques (usage de leur pouvoir oxydant dans la synthèse de matières colorantes) ou pour la préparation de produits manufacturés divers (allumettes suédoises, crayons de couleur, papiers peints, linoléum, encres diverses, blanchiment des huiles, graisses ou cires, etc...).

L'usage le plus important du chrome, au point de vue tonnage, consiste dans la préparation des *aciers chromés* à partir des ferrochromes. Ces aciers chromés sont des produits très durs caractérisés par leur forte charge de rupture. Ils servent à la fabrication d'une quantité d'objets manufacturés. Nous n'en citerons que quelques-uns (obus, outils de tour, limes, blindages, billes et cuvettes de roulement, etc...).

En raison de leur inoxydabilité on utilise maintenant des aciers à forte teneur en chrome en coutellerie et pour la fabrication d'ustensiles de cuisine. Le Nichrome est un alliage de Chrome, de Fer et de Nickel employé pour les résistances de chauffage.

Depuis quelques années, le chrome est utilisé pour la protection de l'acier. Cette opération appelée *chromage électrolytique* a causé depuis son apparition de nombreuses intoxications professionnelles. Il se forme à la partie supérieure des bacs à électrolyse une sorte de brouillard, chargé de vésicules liquides riches en chrome, susceptible de provoquer des lésions d'aspect polymorphe. La nature du bain utilisé est très variable ; le principal constituant étant généralement l'acide chromique.

SCHWARTZ, à ce sujet, indique l'emploi de liqueurs contenant au litre 230 g. de CrO_3 et 30 g. de $(\text{SO}_4)^3\text{Cr}^2$. Les anodes sont en chrome aluminothermique et la densité de courant de 13 ampères par dm^2 ; dans ces conditions l'acier se recouvre d'une couche

brillante comme l'argent et résistante aux agents atmosphériques.

Les dérivés du chrome présentent également une grosse importance en *Tannerie*. Le tannage au chrome a pour but de provoquer la formation d'un complexe métallique sur les fibres de la peau et par suite une combinaison imputrescible et insoluble.

Cette méthode, employée aujourd'hui sur une grande échelle, notamment pour le travail du box-calf, comporte deux séries de procédés, dans le détail desquels nous n'entrerons pas, suivant que l'on opère avec un ou deux bains.

Dans le procédé aux deux bains, on utilise le bichromate de potassium (1^{er} bain) puis un réducteur, généralement l'hyposulfite de sodium (2^e bain). Ce composé présente l'avantage de donner un cuir d'une grande souplesse.

Dans le procédé à un seul bain on utilise soit un bain d'alun de chrome soit, de préférence maintenant, des mélanges de bichromate et d'acide additionnés d'un réducteur (comme le glucose) permettant d'obtenir des cuirs doux et souples.

Les dérivés du chrome sont également employés dans l'industrie textile comme « *mordants* ».

Dans l'impression des tissus dits « indiennes », la fibre de coton est tout d'abord imprégnée d'une liqueur d'acétate de chrome, additionnée de soude et de glycérine ; pour la fibre de laine on préfère utiliser l'acide chromique qui est ensuite réduit par l'acide lactique ou le bisulfite de sodium.

Dans des buts analogues on emploie des chromates de sesquioxyde de chrome, des chromacétates de chrome, des sulfo-acétates et des nitro-acétates de chrome.

Certains dérivés du chrome sont vivement colorés et sont utilisés en peinture. Les principaux d'entre eux sont connus sous le nom de « *jaunes de chrome* ». Ce sont des chromates de plomb. Suivant le mode de préparation utilisé, on obtient toute une gamme de produits allant du jaune serin à l'orangé foncé et au rouge de chrome.

Le sel de plomb (l'acétate en général) est traité dans de grands bacs, munis d'agitateurs, par une liqueur de bichromate additionnée de carbonate ou d'alcali pour neutraliser l'acide libéré. Les solutions sont traitées par le sulfate de potassium lorsque la teinte claire est recherchée ; dans ces conditions, il précipite un

mélange de chromate et de sulfate de plomb, ce dernier sel blanc atténuant la vivacité du premier.

La suppression du sulfate alcalin et une concentration élevée de la liqueur de bichromate donnent un produit jaune foncé.

Pour obtenir un orangé la précipitation est effectuée à 80°.

Ces « jaunes de chrome » sont des couleurs résistant bien à la lumière. Ils sont utilisés dans l'aquarelle, la gouache et la peinture à l'huile. Les belles qualités sont employées en peinture artistique dans la carrosserie et la décoration.

On utilise également en peinture le *vert-Guignet* qui est du sesquioxyde de chrome hydraté. Ce composé entre dans la composition du vert turquoise. Les *verts irlandais* utilisés en peinture sont des mélanges de chromate de plomb et de bleu de Prusse.

Le *bleu de chrome* est un pigment employé à la coloration du verre et de la porcelaine. Il est obtenu en broyant la fritte que donne la calcination d'un mélange de chromate de baryum, de carbonate de magnésie, d'alumine et d'acide borique.

Les principaux usages du chrome exposés ci-dessus montrent la place importante prise, depuis quelques années surtout, par le chrome et ses dérivés dans l'industrie. Ces usages sont la source d'intoxications fréquentes et justifient l'étude toxicologique que nous avons entreprise.

Nous exposerons dans ce chapitre :

- 1° les intoxications dues à l'emploi des dérivés du chrome en thérapeutique ;
- 2° les intoxications accidentelles ou volontaires ;
- 3° les intoxications professionnelles ;
et enfin
- 4° les intoxications expérimentales sur les animaux effectuées par divers auteurs.

I. — Intoxications provoquées par l'emploi des dérivés du chrome en thérapeutique.

Les composés du chrome, utilisés en thérapeutique, ont été principalement l'acide chromique, le chromate et le bichromate de potassium. On trouvera dans une publication de ROUSSEAU [74] de 1878 un exposé des anciens usages de ces dérivés en thérapeutique.

L'acide chromique a été utilisé en raison de ses propriétés caustiques pour la cautérisation des végétations vénériennes vers 1855 par ROBIN à Paris, puis en 1858 par MARCHALL et CUMIN en Angleterre et KELLER en Allemagne.

Les usages de ce corps ont ensuite été étendus au traitement de nombreuses affections de la bouche par MAGITOT (gingivites chroniques, ulcéreuses, aphtes, végétations, fongosités, périostites alvéolo-dentaires, etc...).

Vers 1869, ISAMBERT utilisa l'acide chromique dans diverses maladies de la gorge et du larynx (ulcérations syphilitiques de la langue et rétrécissements syphilitiques du larynx).

Son emploi fut, peu après, étendu au traitement de l'ophtalmie granuleuse.

Ce fut PARDOU DE BELFAST (*Journal of Cuneous Medecine*, n° 5, 1867) qui utilisa le premier l'acide chromique dans le traitement des maladies de peau. Il convient parfaitement pour détruire les verrues. L'acide chromique fut également employé pour la destruction des végétations syphilitiques.

A ce sujet, nous citerons un cas d'intoxication bien caractérisé, provoqué par l'emploi de l'acide chromique. Ce passage est extrait d'un ouvrage de ROUSSEAU [74].

« Fait de mort presque subite par l'emploi d'acide chromique, « 1860. Hôpital de Lourcine (Service de M. JARJAVAY). ... Une « femme affectée de fongosités intra-utérines, fut traitée par une « injection intra-utérine d'acide chromique. La malade accusa « immédiatement des douleurs atroces ; elle fut prise d'accidents « généraux et mourut au bout de deux heures. »

Maintenant que l'absorption par les muqueuses vaginales et utérines est connue de tous, un tel traitement paraît incroyable.

Dans le même ouvrage de ROUSSEAU nous trouvons : « M. Gué- « RIN, chirurgien de l'Hôtel-Dieu m'a assuré que d'autres accidents « s'étaient produits à l'Hôpital Lourcine à la suite de larges cauté- « risations faites sur des végétations syphilitiques. »

L'acide chromique a été également utilisé dans l'armée contre la transpiration.

Seul, parmi les divers chromates, le chromate neutre de potassium a été utilisé en thérapeutique. JACOBSON [39] l'a préconisé comme vomitif à la dose de 5 à 10 cg. et pour la préparation de **moxas**.

Le bichromate de potassium a joui, par contre, d'une plus grande faveur.

En 1827 [11], CUMIN l'emploie dans le traitement des excroissances et des verrues. Vers 1850, il fut utilisé à l'intérieur contre les accidents secondaires de la syphilis. ROBIN signala le premier dans la *Gazette des Hôpitaux* du 8 novembre 1850, cette propriété antisiphilitique.

Par la suite de nombreux auteurs ont étudié les propriétés antisiphilitiques du bichromate de potassium, entre autres : A. WURTZ [91], JUAN DE ANASTIA [43], DE BONNEFOUX [12].

VULPIAN [87] a obtenu de bons résultats, dit-il, en traitant, par le bichromate, des malades atteints de dyspepsie grave. Il l'a utilisé également dans le traitement du cancer. « Ce traitement, dit-il, exerce peut-être parfois une influence favorable, quoique passagère, dans des cas bien avérés de cancer de l'estomac. » Toutefois, VULPIAN fait certaines réserves sur la généralisation que l'on serait tenté de faire de ce traitement. VULPIAN préconise la forme pilulaire pour administrer le bichromate de potassium.

Ce bref aperçu indique l'importance qu'avaient en thérapeutique certains dérivés du chrome (en particulier l'acide chromique et le bichromate de potassium). De nombreux cas d'intoxication, causés par leur emploi, comme antisiphilitique en particulier, ont fait abandonner à peu près complètement leur usage en thérapeutique.

Si les doses de 15 à 20 mg. de bichromate par jour ont pu être supportées par certains malades ; par contre des doses de 30 mg. amenaient, dès les premiers jours, de l'angoisse, des douleurs cardiaques, de la sécheresse de la bouche et des vomissements. Ces symptômes disparaissaient avec l'interruption du traitement.

L'administration se faisait sous forme pilulaire, provoquant des douleurs stomacales et intestinales. Le traitement était poursuivi, en dépit des vomissements, avec des interruptions de un à deux jours quand les symptômes s'aggravaient, ou encore en administrant de l'opium pour calmer les douleurs.

A cette époque, plusieurs études sur la toxicité des dérivés du chrome par ROUSSEAU [74], JAILLARD [41], VULPIAN [87] ont montré les dangers que pouvaient présenter leur emploi par voie interne ou externe et ont contribué à l'abandon presque complet du chrome en thérapeutique.

II. — Intoxications criminelles accidentelles ou par suicide.

Comme intoxication criminelle, nous rappellerons le cas signalé par DUCATEL de cet ouvrier empoisonné par un camarade ; ce dernier ne fut pas poursuivi, le bichromate n'ayant pas été reconnu comme étant un poison [18].

Il est compréhensible que les dérivés du chrome soient rarement utilisés dans un but criminel, en raison de la difficulté de faire absorber le poison.

Les suicides sont excessivement rares parce que la toxicité de ces dérivés est peu connue et que la causticité du sel provoque une irritation des muqueuses entraînant le rejet du poison par les vomissements.

ROUSSEAU [74] cite un empoisonnement suicide au bichromate de potassium (observation du Dr WILSON dans le *London Medical gazette* de 1844).

On trouve également dans la littérature, quelques cas d'intoxications accidentelles par les dérivés du chrome.

Dans un cas observé par le Dr BAER et relaté par DUCATEL [17], un ouvrier avait aspiré, à l'aide d'un siphon, une petite quantité de solution de bichromate de potassium. La mort se produisit au bout de cinq heures seulement. A l'autopsie, les muqueuses de l'estomac et du début de l'intestin grêle étaient détruites en partie. Le reste de l'intestin était sain.

Un autre cas est rapporté par TAYLOR [82]. Une femme ayant absorbé 2 g. de bichromate de potassium mourut après 4 heures. Les symptômes d'intoxication ont été : diarrhée, vomissements, pouls très faible, refroidissement de la peau, coma. La muqueuse stomacale et intestinale était injectée et ulcérée en plusieurs points.

SWANIC TAYLOR [82] dans *Principles and practice of medical Jurisprudence*, 1865, p. 260, rapporte trois cas accidentels d'empoisonnement par les dérivés du chrome.

Dans un des cas, la mort se produisit en 4 heures après absorption de 3 g. 50 de bichromate de potassium.

« On observa de la diarrhée, des vomissements de teinte jaune intense, puis la femme tomba dans un état demi-comateux ; le pouls était petit, filiforme ; la respiration bruyante et stertoreuse ;

la peau froide et insensible, les lèvres et la langue noirâtres et tuméfiées ».

A l'autopsie, les vaisseaux et le cœur sont pleins d'un sang noir presque fluide. La muqueuse de l'estomac et du duodénum est injectée et ulcérée en différents endroits.

Ces lésions permettent de classer le bichromate de potassium parmi les poisons irritants et corrosifs.

Les intoxications que nous venons de rappeler sont donc assez peu nombreuses et étaient toutes dues au bichromate.

III. — Intoxications professionnelles.

Nous nous sommes inspirés dans cet exposé d'un ouvrage du Professeur Dr LEHMANN, Directeur de l'Institut d'Hygiène de l'Université de Wurzburg [55], paru en 1914.

Ce travail du Dr LEHMANN *Die Bedeutung der Chromate für die Gesundheit der Arbeiter. Kritische und experimentelle Untersuchungen*, effectué avec l'aide de nombreux collaborateurs, est considérable et traite en détail du problème sous toutes ses faces. Il comporte en particulier une étude expérimentale sur les animaux, destinée à reproduire les accidents constatés dans l'Industrie.

Il ne semble pas que la manipulation des sels de chrome soit susceptible de provoquer des intoxications chez les ouvriers. Par contre les accidents provoqués par la manipulation des chromates, bichromates ou acide chromique, sont connus depuis longtemps. Les premières observations sur l'action du chrome sur l'organisme concernent les intoxications industrielles.

Le médecin anglais DUNCAN [19] a observé à Glasgow en 1826, que depuis l'introduction du bichromate de potassium comme mordant en teinture, les ouvriers présentaient des abcès aux mains. Ces abcès s'étendaient en profondeur et rongeaient les tissus des bras et des mains.

Peu de temps après, CUMIN [41] cite des cas analogues. Deux ouvriers d'une teinturerie présentent des abcès aux mains après avoir plongé les bras dans une solution de chromate. Il se forme d'abord, dit-il, une éruption qui dégénère en pustules puis sous celles-ci se forment des abcès.

C'est à la suite de ces observations que CUMIN recommanda le bichromate pour la résorption des verrues et des excroissances.

DUCATEL en 1834 [17] signale la présence d'abcès chez des ouvriers manipulant l'acide chromique. Il signale en outre une intoxication accidentelle d'un ouvrier par une tartine de pain beurrée, laissée dans un sac saupoudré de bichromate de potassium.

CHEVALIER publia en 1851 et en 1852 quelques informations sur les accidents par le chrome. En 1863, il publia avec BÉCOURT une étude sur ce sujet [3].

Il signala que pendant la transformation du chromate en bichromate en milieu acide, il se produit une élévation de température les vapeurs entraînent une certaine quantité de bichromate qui retombe en poussière dans l'atelier. Cette atmosphère provoque des éternûments, de la démangeaison du nez, des larmes et des perforations de la cloison nasale. Les symptômes d'intoxication semblent s'arrêter à ce stade.

La peau saine n'est pas atteinte, mais la moindre plaie cause une douleur cuisante. Si l'action du bichromate est prolongée, le tissu cutané est détruit et il se produit une forte inflammation.

En 1863 et 1864, DELPECH [14] et HILLAIRET [37] présentèrent à l'Académie de Médecine deux travaux qu'ils publièrent ensuite en trois fois en 1869 et 1876 aux *Annales d'Hygiène* [13].

Ils signalèrent des cas d'anémie chez les ouvriers manipulant des chromates neutres. Selon eux, une lésion de l'épithélium n'est pas une condition nécessaire pour qu'il y ait des abcès de la peau. Ils attribuent l'apparition d'abcès aux plis des doigts et au poignet à la minceur de l'épithélium.

WURTZDORF [90] en 1897 a fait un exposé sur la teneur en chrome de l'atmosphère, et sur l'entraînement du sel de ses solutions bouillantes.

Dans un ouvrage de FISCHER [29] de 1911, on trouvera des statistiques sur les affections chromiques constatées dans une série de grosses usines allemandes pendant plusieurs années. Il indique en outre, les moyens pour préserver les ouvriers ; ceux-ci comportent surtout des soins de propreté et d'hygiène de la part des employés et une ventilation des ateliers.

En 1914, le Dr LEHMANN [55] a publié son important travail sur l'importance du chrome sur la santé des ouvriers.

Depuis quelques années, divers auteurs ont signalé de nombreux cas d'intoxications professionnelles par manipulation des dérivés du chrome.

BLOOMFIELD et WILLIAM BLUM en 1918 [5], ont attiré l'attention sur les dangers du chromage électrolytique pour la santé des ouvriers. Ils ont constaté dans 50 % des cas, une inflammation de la muqueuse nasale et dans quelques cas une perforation de la cloison du nez. Ils n'ont rien trouvé du côté des poumons ni du côté de l'intestin. Par ventilation des ateliers, ces accidents sont évités.

GRAHAM ROGERS en 1929 [33] a signalé chez les ouvriers travaillant au chromage, des cas d'eczéma, d'ulcérations et des perforations de la cloison nasale. Pour éviter ces accidents, l'auteur préconise l'emploi de lavages fréquents et d'enduits gras dans les narines ainsi que le port de gants de caoutchouc.

On trouvera dans *Pathologische Anatomie und Histologie der Vergiftungen* de PETRI [68], une bonne monographie des accidents professionnels, dus aux dérivés du chrome, constatés par de nombreux auteurs.

FORSTER en 1929 [32] a préconisé une série de remèdes contre les accidents dans les usines de chromage électrolytique.

OVERTON [67] en 1930 a indiqué un certain nombre de précautions à observer pour éviter ces intoxications.

En 1930, SCHWARTZ et SIEKE [75] ont signalé des cas d'intoxications aiguës par les vapeurs d'acide chromique dans une usine de chromage électrolytique. Ils ont constaté chez cinq ouvriers des symptômes d'irritation des voies respiratoires supérieures et de la conjonctivite.

TRUMPER [84] a signalé en 1931, 33 cas de dermatite, 4 cas de destruction de la cloison nasale, 9 cas d'altérations des mains et des pieds chez des ouvriers travaillant dans une usine de chromage électrolytique.

SCHMITH [76] en 1931 a signalé le cas d'un ouvrier de 25 ans, présentant une sensibilité spécifique au chrome, se manifestant par de l'asthme, de la faiblesse musculaire et par des ulcérations des mains.

BIANCALINI [4] en 1931 a indiqué des cas d'intoxication par le chrome chez des ouvriers travaillant dans des usines de chromage électrolytique, de photogravure et dans des tanneries. Il a constaté les lésions courantes (ulcérations des mains et de la cloison nasale) et certains cas d'eczéma et d'hypersensibilisation.

ENGELHARDT et MAYER [21] ont constaté des cas d'eczéma dus aux composés du chrome, chez des ouvriers en lithographie. Cet

eczéma serait dû à une hypersensibilisation vis-à-vis du bichromate dans 74 % des cas.

RASSOW et WOLF [72] en 1931 ont proposé l'emploi d'une couche de pétrole raffiné, additionné d'un ester, sur les bains électrolytiques de façon à éviter les intoxications chez les ouvriers.

A. LANGELEZ [54] inspecteur général du service médical en Belgique a attiré l'attention, sur la fréquence et la gravité des accidents dus au chrome, en particulier au chromage électrolytique.

« L'action du chrome, irritante ou toxique, détermine des lésions extrêmement polymorphes : érythèmes, brûlures superficielles et, chez les sujets prédisposés, dermites eczématiformes. Tant que l'épiderme est intact, les lésions s'établissent difficilement, mais les gerçures ou les crevasses, lorsqu'elles existent, deviennent vite le siège d'un ulcère dur et douloureux qui s'observe également dans l'industrie chimique des chromates et qui siège surtout aux espaces interdigitaux, au rebord des ongles, au niveau des articulations. Ces lésions, à évolution lente et progressive, connues chez les ouvriers sous les noms de « trous de chrome », « rossignols » ou « pigeonneaux » ne s'arrêtent dans leur évolution que par la cessation du contact avec la solution chromique. Les anciens ouvriers possèdent sur les mains de nombreuses cicatrices d'ulcères guéris. »

« Au niveau des yeux, les buées contenant la vapeur de chrome, ne paraissent pas avoir d'action dangereuse. Mais la projection de gouttelettes dans l'œil ou l'application sur celui-ci de doigts mouillés peut entraîner des brûlures de la cornée, suivies de taies indélébiles. Toutefois, ces cas sont assez rares. »

« L'action la plus fréquente et la plus caractéristique, est celle qu'exerce sur la muqueuse nasale, le passage des vapeurs de chrome. Elle entraîne un coryza chronique qui s'accompagne, dans de très nombreux cas, d'une atteinte du septum. »

LEHMANN [56], en 1932, a signalé que si les chromates peuvent agir comme irritants chroniques sur le poumon, aucun fait ne prouve, jusqu'à présent, la corrélation entre cette action et le cancer pulmonaire.

BRANDT [6], en 1932, a constaté un cas de dermatite chronique provoqué par un enduit protecteur constitué d'une suspension de chrome dans le pétrole, qui était employé en pulvérisations.

Tous les travaux précédents, sur les intoxications profession-

nelles, ont trait aux chromates, aux bichromates, ou à l'acide chromique. Il n'est pas question de l'action des sels de chrome.

Les voies de pénétration du toxique dans l'industrie, peuvent être ramenées à trois cas :

1^o Action sur la peau ou les muqueuses, sous formes de solution.

2^o Action des poussières qui se produisent lors de la pulvérisation des cristaux, pendant le séchage ou le transport des chromates et bichromates.

3^o Action sous formes de gouttelettes vésiculaires provenant de solution à l'ébullition ou sous forme de vapeurs qui peuvent être chargées de chrome.

WURTZDORF [90] a établi, le premier, des données quantitatives à ce sujet.

Nous avons vu que les accidents portaient surtout sur la peau.

Lorsque la peau est saine, les solutions de chromates ne produisent pas d'accidents, mais, la moindre plaie entraîne des lésions. Il apparaît souvent de l'eczéma, celui-ci se manifeste au visage, aux mains et aux pieds. La transpiration prédispose à ces accidents.

Le contact des solutions aux endroits lésés, provoque des abcès nécrosants. Il se produit d'abord une enflure allant en augmentant, avec apparition au centre d'une croûte spongieuse qui se sépare du tissu sain. Le contact répété avec la solution de chrome accroît l'inflammation. Il se produit des ulcérations avec une granulation fongueuse gris rosé dans le fond. L'ulcère peut parfois devenir de plus en plus profond et atteindre les os et les articulations si le malade ne se soigne pas.

Ces cas sont en régression et ne se constatent que chez les ouvriers ne prenant pas de précautions.

En dehors des lésions de la peau, les altérations du nez avec perforation de la cloison nasale sont très fréquentes. Le point d'apparition des abcès se trouve en arrière de la ligne où se termine la couche épithéliale à l'intérieur du nez, soit à 2 ou 3 cm. du bord des narines. A cet endroit, il apparaît un point gris blanc de 0 cm. 5 à 1 cm. de dimension, qui se transforme en abcès au bout de quelques jours. Celui-ci gagne en profondeur et aboutit, au bout d'un temps variable (de quelques jours à plusieurs mois), à une perforation de la cloison nasale. Cette perforation est indolore et n'est

accompagnée d'aucun autre symptôme. Parfois des hémorragies nasales se produisent dès les premiers jours.

Pourquoi la cloison cartilagineuse du nez est-elle seule à être atteinte ? Il faut attribuer cette localisation de la perforation probablement au fait que cette place est particulièrement atteinte pendant l'inspiration et à ce qu'elle est pauvre en épithélium pavimenteux.

Il a été constaté que d'autres produits chimiques (les sels de potasse par exemple) provoquaient l'apparition des mêmes abcès, amenant la perforation du septum.

L'action du chrome peut porter sur tout l'appareil respiratoire. C'est ainsi que certains auteurs (MACKENSIE [61]) ont constaté des abcès du pharynx, de la trachée et des bronches. Le même auteur a constaté quelques cas d'otites (*Annales des maladies de l'oreille et du larynx*, sept. 1884).

Toutefois, les accidents respiratoires sont assez rares ; DELPECH et HILLAIRET découvrirent les premiers des symptômes pulmonaires, une sensation d'oppression qui va jusqu'à l'orthopnée, durant plus ou moins longtemps, cessant puis revenant, en particulier de façon plus intense pendant la nuit, avec toux et expectoration abondante. Ces observations semblent sujettes à caution : en effet, elles ont été constatées dans un laboratoire où le salpêtre servait à préparer les chromates, ce qui provoquait un dégagement de vapeurs nitreuses.

Quelques troubles de l'appareil digestif ont été constatés mais ceux-ci ont été passagers (ce sont des diarrhées et des coliques plus ou moins douloureuses).

On n'a rien retrouvé du côté du rein chez les ouvriers manipulant les chromates et les bichromates.

Il ne semble pas d'autre part, d'après les auteurs cités précédemment, que le chrome puisse provoquer chez les ouvriers des maladies générales.

Les accidents professionnels dus aux dérivés du chrome sont constatés chez les ouvriers travaillant dans les fabriques de chromates, de bichromates et d'acide chromique ; dans les teintureries où les dérivés du chrome sont utilisés comme mordant ; dans l'industrie de la peinture où l'on utilise les jaunes de chrome ; et dans les usines de chromage électrolytique.

Divers auteurs ont cherché à reproduire expérimentalement sur

les animaux les lésions constatées dans les intoxications professionnelles où accidentelles.

IV. — Intoxications expérimentales sur les animaux.

Un des premiers travaux sérieux effectués dans ce sens est celui de JAILLARD en 1835 [41].

Cet auteur a cherché à déterminer qu'elle était la dose toxique du bichromate de potassium en faisant des intoxications buccales sur le chien et des inclusions de cristaux de bichromate sous le tissu cutané.

Voici les conclusions de JAILLARD :

« Nous pouvons conclure que 0 g. 25 de bichromate de potassium, introduits dans l'estomac d'un chien moyen, ou déposés dans son tissu cellulaire, ou injectés dans une de ses veines, peuvent amener la mort, d'une manière certaine, dans l'espace de 2 à 6 jours ».

Les symptômes manifestés à la suite de l'administration de bichromate, sont les suivants d'après JAILLARD :

« A faible dose, 5 à 10 cg., c'est un irritant momentané du conduit alimentaire. Il amène des vomissements, quelquefois de la diarrhée, de la perte d'appétit, de la difficulté dans la respiration, du ralentissement de la circulation. Si la dose est plus élevée, tous les phénomènes d'une gastrite suraiguë se manifestent ; la soif est vive ; les vomissements sont difficiles et spontanés. Ils sont composés de matières muqueuses, bilieuses, jaunâtres et parfois sanguinolentes. En même temps la chaleur des extrémités disparaît ; il y a de la dyspnée, une grande anxiété, de la perte d'appétit, des vomituritions nombreuses puis la respiration devient stertoreuse et c'est au milieu de la prostration la plus complète que le sujet succombe ».

« Le bichromate de potassium porte constamment son action sur le conduit alimentaire, amène le ramollissement de la muqueuse, détermine de la rougeur, des ecchymoses, parfois des ulcérations suivies de gangrène partielle sur les parois gastro-intestinales. Les poumons sont aussi le siège fréquent d'ulcérations ; le plus souvent, on les trouve seulement engoués, quelquefois, ils présentent de la splénisation et de l'hépatisation, dans une

« partie de leur étendue. Le sang semble avoir subi une modification ; il est noir, diffusible et mal coagulé ».

ROUSSEAU [74] en 1878 apporte une contribution à l'étude de l'acide chromique, des chromates et de quelques composés du chrome.

Il effectua un certain nombre d'intoxications par voie buccale et hypodermique sur des cobayes.

L'auteur n'a constaté de lésions constantes que du côté de l'estomac qui présentait des lésions plus ou moins graves allant de l'ecchymose à l'hémorragie. Le chromate de sodium serait d'après lui aussi toxique que le bichromate de potassium.

Dans les intoxications brutales, les globules seraient allongés déformés et crénelés.

ROUSSEAU a effectué également des intoxications aux sels de chrome (chlorure et sulfate de sesquioxyde de chrome) il a fallu 0 g. 82 de sesquichlorure pour tuer un cobaye en 5 jours, l'estomac présente un piqueté hémorragique léger. Le tissu cellulaire où les injections ont été faites est épaissi, induré et vert.

De ces expériences ROUSSEAU conclut : « Les sels où le chrome joue le rôle électro-positif sont donc infiniment moins dangereux que les chromates ; s'ils causent des malaises, ils n'amènent la mort qu'à doses fortes et répétées ».

En 1877, GERGENS découvrit que dans l'empoisonnement aigu, par injection sous-cutanée ou intraveineuse d'acide chromique ou de chromate, il se produisait une inflammation des reins.

KABERSKE entreprit en 1880 l'étude des lésions du rein. Il obtint des inflammations subaiguës des reins par des injections sous-cutanées de 25 à 50 mg.

Il y aurait nécrose par coagulation de l'épithélium (se référer p. 40 de l'ouvrage de LEHMANN [55]) en particulier des glomérules des tubes contournés et des canaux droits.

Par intoxication subaiguë ne provoquant pas la mort il y a une prolifération interstitielle avec élargissements des interstices.

N. OPHULS a publié sur ce sujet des études intéressantes. A la suite d'une intoxication chronique au bichromate de potassium, il a constaté dans les reins les caractères suivants : les capsules glomérulaires étaient dilatées et remplies d'un liquide coagulé, contenant parfois des globules rouges. Il trouva, dispersés dans

l'enveloppe, un grand nombre de foyers d'infiltration cellulaire d'une dimension considérable.

Les plus grands présentaient dans le milieu des formations nouvelles de tissu conjonctif. Ces foyers étaient ordinairement près des glomérules. Les grosses artères étaient entourées de grosses masses de tissu conjonctif visqueux.

Le foie présentait une plus forte teneur en graisse.

Il trouva en outre des gastrites considérables et de l'entérite folliculaire mais sans destruction des muqueuses.

En 1885, VIRON effectue une étude des propriétés toxiques de quelques préparations chromées [86].

Il constate que « même à faible dose, tous les sels à base de chrome deviennent toxiques après un temps plus ou moins long ; pendant quelques semaines ou quelques mois, suivant le composé chromé mis en usage, l'organisme semble bien supporter ces préparations ; mais bientôt l'intoxication apparaît avec un cortège de symptômes assez constants qui indiquent que l'organisme est saturé... il y a apparition de glucose et d'albumine ».

Selon VIRON « le tube digestif est la plus puissante voie d'élimination des préparations chromées ».

Dans les intoxications chroniques VIRON a retrouvé le chrome dans le foie, le cerveau et la rate.

La plupart des études sur la toxicologie des dérivés du chrome, n'ont trait qu'aux intoxications aiguës. On trouvera par contre dans l'ouvrage de LEHMANN déjà cité [55] l'exposé d'un certain nombre d'intoxications chroniques sur des Chiens, des Chats et des Lapins. Ces expériences ont porté sur une période allant de un an et demi à deux ans, les sels utilisés étant le bichromate et le chromate de potassium.

Les résultats obtenus ont été les suivants :

Chez le Chien, le Chat ou le Lapin, une quantité de 2 à 5 mg. par kilogramme, mêlée à des albuminoïdes (viande, avoine) altère la santé des animaux au bout de 3 à 16 mois de façon peu notable ; quoique l'urine présente des traces d'albumine, il n'y a pas eu de symptômes spéciaux de lésions du rein. En aucun cas, le diagnostic d'une néphrite n'a pu être établi.

Les animaux ne montrent rien d'anormal, le développement des jeunes sujets suit son cours habituel ; leur appétit est excellent.

L'autopsie, dans la majorité des cas, n'a rien permis de retrouver d'extraordinaire.

Les trois chiens intoxiqués n'ont pas eu de modifications dignes d'être notées. 5 chats ayant subi, deux années durant, l'intoxication au bichromate, avaient des reins normaux. Un seul présentait une atrophie des reins que l'auteur n'attribue pas au chrome. Six lapins nourris à l'avoine additionnée de chrome, présentèrent des reins normaux.

Par contre les lapins nourris avec des betteraves ou des carottes présentèrent des lésions nettes, en particulier une inflammation de l'intestin grêle.

LEHMANN conclut que les animaux mal nourris sont plus sensibles et qu'une alimentation albuminoïde diminue la toxicité du bichromate en diminuant l'irritation locale.

Il cite également quelques essais concernant l'action des chromates sur la peau.

Les résultats les plus probants furent obtenus en badigeonnant la peau rasée avec deux ou trois cm³ de solution de bichromate à 3 %, sur une surface grande comme une soucoupe. Il se forme alors rapidement un abcès croûteux de plus en plus grand et de vilain aspect. Le chrome est retrouvé dans les urines de l'animal.

L'auteur n'a pas poursuivi plus avant ces recherches estimant que les intoxications cutanées sont très rares dans l'industrie.

D'autre part, LEHMANN a cherché à reproduire expérimentalement sur les animaux les lésions du nez et des bronches, en particulier la perforation de la cloison cartilagineuse du nez.

A l'aide d'un dispositif spécial, l'air se charge de fines gouttelettes de solution de dérivés du chrome ; cet air est ensuite envoyé dans un récipient où se trouve l'animal soumis à l'inhalation (1).

La teneur de l'air de la cage respiratoire était environ de 1 mg. par m³ ; en fait, elle a varié de 0 mg. 6, à 3 mg. dans divers cas, c'est-à-dire dans le rapport de un à cinq.

Les animaux furent traités pendant un mois par quatre inhalations quotidiennes de vingt-cinq minutes chacune. Les animaux ne présentèrent pas de symptômes bien caractéristiques : démangeoisons du nez, rougeurs, éternûments, apathie et respiration précipitée.

(1) Toutefois nous ferons remarquer la difficulté d'obtenir une concentration déterminée en chrome de l'atmosphère.

Les animaux tués au chloroforme, ne présentèrent pas de modifications du nez, de la bouche ni des bronches ; seule la muqueuse du septum était enflammée.

Ces résultats sembleraient prouver que lorsqu'un ouvrier n'entre en contact avec les vapeurs de bichromate que de temps en temps, il faut une longue période pour arriver à une affection nasale sérieuse (un mois ne suffisant pas).

La teneur de 1 mg. de chrome par m^3 dans les expériences précédentes est élevée par rapport aux résultats analytiques trouvés dans l'atmosphère des usines (la teneur oscille de 0 à 0 mg. 15 par m^3).

LEHMANN fit ensuite subir des séjours plus prolongés à ses animaux dans des atmosphères plus riches en chrome (de 7 à 8 mg. de chrome par m^3).

Nous rapporterons une de ses nombreuses expériences.

Un chat subit chaque jour à 5 reprises pendant 3 heures, une atmosphère à 7 mg. de chrome par m^3 . Le premier jour, l'animal ne semble pas incommodé. Il se produit seulement un peu d'écoulement nasal, le deuxième jour, la tête est inclinée, l'écoulement est plus fort. Le troisième jour état identique. Le quatrième jour il étérnue plusieurs fois et dort la plupart du temps. A sa sortie de l'appareil son apathie est frappante, sa respiration est très rapide. Les jours suivants, ces symptômes s'aggravent ; l'appétit diminue. Le neuvième jour le chat ne mange plus ; il reste immobile et meurt dans la nuit.

A l'autopsie, la cloison du nez présente, dans sa partie cartilagineuse, un trou de 3 mm^2 bordé de blanc. La muqueuse du septum et des cornets est fortement injectée et recouverte d'une légère couche de mucus. La muqueuse du larynx est gris rosé ; elle est recouverte d'une mince couche de mucus purulent qui augmente de plus en plus à mesure que l'on descend dans la trachée.

Trois des lobes du poumon sont atteints de catarrhe ; ils sont congestionnés ; la capacité respiratoire est diminuée ; il y a de plus de l'œdème pulmonaire. L'analyse bactériologique du mucus a permis de retrouver du streptococcus lanceolatus.

La mort est due à une pneumonie catarrhale.

Suivant les temps de séjour des animaux dans l'atmosphère au chrome, LEHMANN a constaté : soit des abcès en formation sur la cloison cartilagineuse, soit des abcès nettement déclarés, soit des perforations.

En résumé, il suffit d'une inhalation quotidienne de trois heures pendant cinq jours pour provoquer une ulcération du septum (la teneur de l'atmosphère en chrome étant de 8 mg. par m³). Après trente inhalations de trois heures dans une même atmosphère, il y a une perforation du cartilage du nez, apparaissant à la même place que chez l'homme. La mort se produit par suite des lésions pulmonaires.

Ces essais montrent que les chromates et les bichromates constituent un réel danger pour les organes respiratoires aussi bien chez les animaux que chez les humains (Toutefois le lapin présente une résistance exceptionnelle, puisqu'après trente-cinq inhalations de trois heures, il ne présente que de légers abcès du septum et rien du côté du poumon).

LEHMANN ne traite dans son ouvrage que de l'action des chromates et des bichromates à doses faibles mais répétées sans faire mention de la toxicité des sels de chrome.

ELSE PETRI [68] signale que KOBERT, MEYER et SCHUM ont trouvé de petites quantités de méthémoglobine dans le sang.

FORSBACH et ses collaborateurs [31] en 1919 citent des cas de polynucléaires, riches en formes jeunes.

BRIEGER et BREITBART en 1921 [7] ont noté une destruction des hématies, s'accompagnant d'anisocytose ; d'autre part, il se produit une hyperleucocytose.

Récemment M. KOHN-ABREST [52] et le Dr PRADIER en 1927 ont publié un travail sur l'action des petites doses de sels de sesquioxyde de chrome sur les animaux. On trouvera des renseignements détaillés dans la thèse de PRADIER.

Voici ce que dit à ce sujet M. KOHN-ABREST : « Il résulte de cette étude que les sels de chrome, notamment les sels de sesquioxyde sont de toxicité nulle sur les cobayes, lorsqu'ils sont ingérés à faibles doses quotidiennement répétées. Même lorsque les doses quotidiennes sont relativement élevées, atteignant jusqu'à 50 cg., aucun effet de toxicité n'est observé au cours d'un traitement de quinze jours ».

Ces conclusions sont en contradiction avec celles de VIRON. La contradiction s'explique toutefois. Un traitement de quinze jours n'est peut-être pas suffisant pour constater les effets d'une intoxication chronique.

M. KOHN-ABREST dit encore : « Ces expériences démontrent que

les sels de chrome ne paraissent avoir aucune action sur l'organisme des cobayes et ne provoquent aucune lésion des muqueuses digestives, intestinales et urinaires. Ils sont éliminés par les voies intestinales et urinaires à mesure de leur absorption et ne sont pas retenus par le foie comme le mercure. Quant aux sels de sesquioxyde de chrome, ils sont éliminés principalement par la voie intestinale. D'après les courbes de poids des animaux, il se pourrait même que les sels de chrome eussent une action favorable sur l'organisme. Il serait intéressant de rechercher s'ils n'agissent pas dans ce sens comme le fer et ses composés ».

Récemment RABBENO [70] a fait des essais de toxicité comparée du chromate et du bichromate de sodium sur le lapin. Il en conclut que le bichromate est deux fois plus toxique que le chromate de sodium.

D'autre part [69] il a constaté l'action méthémoglobinisante *in vivo* du chromate et du bichromate de sodium par injection intraveineuse.

En 1932, CONN, WEBSTER et JOHNSON [9] ont effectué des intoxications sur des rats en leur donnant des sels de chrome en très faible quantité quotidiennement. Ceci était fait pour voir si l'emploi d'ustensiles en acier chromé pouvaient provoquer des intoxications. Ces auteurs concluent à l'absence de danger par l'usage de ces récipients.

Les travaux effectués jusqu'ici sur l'action toxique des dérivés du chrome, présentent de nombreuses discordances. Les auteurs sont seulement d'accord sur la toxicité des chromates et bichromates à dose massive.

LEHMANN arrive à la conclusion que le bichromate n'est pas toxique lorsqu'il est administré avec une alimentation albuminoïde, à petites doses répétées quotidiennement.

KOHN-ABREST [52] conclut à la non toxicité absolue des sels de chrome, même lorsqu'ils sont donnés au cobaye à la dose de 0 g. 50 par jour pendant quinze jours.

VIRON, par contre [86], conclut à la toxicité du chrome sous toutes ses formes au bout d'un temps plus ou moins long.

Nous nous sommes attaché à résoudre ces points obscurs en effectuant des intoxications chroniques à l'aide de divers dérivés du chrome. D'autre part, nous avons repris les intoxications aiguës pour étudier la répartition du toxique et ses voies d'élimination,

recherches qui n'avaient pas été effectuées avec toute la rigueur nécessaire, ceci étant surtout dû à la faible sensibilité des méthodes de dosage dont disposaient les auteurs.

Les procédés de destruction utilisés par les différents auteurs laissaient beaucoup à désirer. Ils ont employé généralement la déflagration avec l'azotate de potassium. Le dosage était effectué soit à l'état de O^2Cr^2 , soit à l'état de chromate de plomb. Dans certains cas le dosage était effectué par volumétrie, par action du bichromate en solution acide sur l'iodure de potassium, avec titrage à l'hyposulfite de l'iode libéré. Mais, dans ce cas, l'auteur avait de grosses difficultés à faire un dosage correct par suite de la présence constante de sels ferriques dans les tissus, susceptibles par conséquent de provoquer des erreurs par excès.

Nous verrons par la suite, que les techniques que nous avons adoptées sont sensiblement différentes de celles exposées ci-dessus. Elles ont surtout l'avantage d'être beaucoup plus simples et beaucoup plus sensibles.

Les divers auteurs qui se sont occupés de la toxicologie des dérivés du chrome, ne se sont pas inquiétés de savoir s'il existait du chrome normalement dans les tissus animaux.

Seul, M. KOHN-ABREST [52] dit à ce sujet « l'analyse démontre qu'il n'existe pas normalement de chrome dans l'organisme humain... ».

Cette conclusion ne semble pas d'accord avec les opinions de certains auteurs.

C'est ainsi que P. DUTOIT et Ch. ZBINDEN en 1930 [20] ont trouvé, par l'analyse spectrographique des cendres des organes humains, des traces de chrome dans presque tous les tissus avec une teneur un peu plus élevée pour les thyroïdes et la rate. ZBINDEN continuant ces recherches en 1931 [93] a trouvé, par spectrographie, du chrome normal dans le lait humain ainsi que dans le lait de vache.

J. NEWELL et MAC COLLUM en 1931 [64] ont trouvé, par l'analyse spectrographique, des traces constantes de chrome dans divers poissons et crustacés examinés.

DINGWALL et BEANS [16] ont trouvé, par spectrographie également, du chrome dans certaines tumeurs humaines. Leur teneur serait relativement élevée (de 0,01 à 0,25 % du poids des cendres).

Toutefois les quantités signalées par ces divers auteurs sont

excessivement faibles et peuvent être considérées comme négligeables dans des recherches toxicologiques ; leur présence ne pouvait pas fausser les résultats des dosages effectués sur les organes des animaux intoxiqués expérimentalement.

Par cet exposé, il est aisé de se rendre compte de l'intérêt qu'a pu présenter et que présente encore l'étude toxicologique des dérivés du chrome, d'une part en raison de leurs emplois passés en thérapeutique et d'autre part en raison des nombreux cas d'intoxications professionnelles constatés chez les ouvriers manipulant les composés du chrome dans diverses industries (Préparation des chromates, bichromates et acide chromique, préparation des cuirs chromés, des jaunes de chrome employés en peinture, chromage électrolytique, emploi du chrome dans la teinturerie pour le mordantage, etc.).

PREMIÈRE PARTIE

TECHNIQUES ANALYTIQUES

RECHERCHE QUALITATIVE DU CHROME

Le chrome a été découvert en 1797 par VAUQUELIN. C'est un métal gris d'acier ne s'oxydant pas à l'air et inattaqué par l'acide nitrique. Il est soluble dans l'acide chlorhydrique et, à chaud, dans l'acide sulfurique dilué.

Le chrome fournit deux séries de sels correspondant aux deux oxydes $\text{O}^\text{I}\text{Cr}$ et $\text{O}^\text{III}\text{Cr}^\text{II}$. Il existe un autre oxyde fonctionnant comme acide, l'anhydride chromique CrO_3 (ou acide chromique des pharmacies). A cet oxyde correspondent les chromates et les bichromates.

Nous laisserons de côté les réactions analytiques des sels chromeux (correspondant à l'oxyde $\text{O}^\text{I}\text{Cr}$). Ceux-ci sont relativement peu connus et sont instables au contact de l'air. Ils se transforment rapidement en présence d'oxygène, en sels chromiques.

Caractères analytiques des cations chromiques.

Les sels chromiques (sels correspondant à l'oxyde $\text{O}^\text{III}\text{Cr}^\text{II}$) sont pratiquement les seuls rencontrés dans le commerce. Il existe deux catégories de sels chromiques : les sels verts et les sels violets. La plupart sont solubles (comme exception, citons le phosphate). Les sels violets sont les sels où le chrome est ionisé totalement alors que dans les sels verts, certains OH de l'hydroxyde $(\text{OH})^\text{III}\text{Cr}$ fonctionneraient comme des (OH) alcooliques, pour former avec les acides des sortes d'esters (comme ceux rencontrés en chimie organique). Il en résulterait une hydrolyse partielle et une ionisation incomplète.

Les sels verts sont très solubles et difficilement cristallisables.

Les sels violets sont, au contraire, facilement cristallisables.

En fait il se produit, à chaque température, un équilibre entre ces deux variétés. La forme violette est stable à basse température ; elle se transforme, par la chaleur, en variété verte. Par refroidissement la transformation inverse se produit.

L'évaporation lente à la température ordinaire aboutit à des cristaux violets, la forme verte, plus soluble, se transformant à mesure en variété violette plus facilement cristallisable.

Les principales réactions des sels chromiques sont les suivantes :

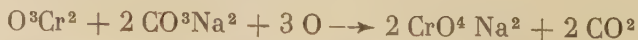
1^o Anion oxhydrique : a) *l'ammoniaque et le sulfure d'ammonium* donnent un précipité gélatineux gris verdâtre d'hydroxyde chromique avec les solutions des sels chromiques (cette réaction est commune avec l'aluminium).



L'hydroxyde chromique est légèrement soluble dans un excès d'ammoniaque en donnant une coloration violette ; quand il est précipité d'une solution violette d'un sel chromique en présence de sels ammoniacaux, il se dissout plus facilement dans un excès d'ammoniaque. Il se forme des complexes ammoniés, qui toutefois se décomposent de façon quantitative, avec séparation d'hydroxyde, lorsque l'excès d'ammoniaque a été éliminé par ébullition.

Par suite, lorsque le chrome doit être séparé quantitativement à l'état d'hydroxyde par l'ammoniaque, il faut faire la précipitation à l'ébullition, employer aussi peu que possible d'ammoniaque et chasser l'excès par une ébullition prolongée.

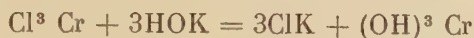
Par calcination prolongée de l'hydroxyde de chrome, il se forme de l'oxyde vert O^3Cr^2 qui devient insoluble dans les acides. Pour le dissoudre il faut effectuer une fusion au pyrosulfate de potassium, comme dans le cas de l'alumine, ou le fondre avec du carbonate de sodium et un azotate alcalin dans un creuset de platine. Il se transforme en chromate de sodium jaune.



La masse fondue peut ensuite être dissoute dans l'eau, la solution acidifiée à l'acide chlorhydrique est traitée par de l'alcool à l'ébullition ; il se forme du chlorure chromique vert. Par l'ammoniaque l'hydroxyde peut ensuite être précipité de la solution verte.

La fusion alcaline au carbonate de sodium et au salpêtre, faite au creuset de platine, attaque toujours ce dernier, de sorte qu'il y a toujours du platine dans la solution de la masse fondue. En traitant par un courant d'hydrogène sulfuré et l'acide chlorhydrique à l'ébullition, le sulfure de platine précipite et est séparé par filtration.

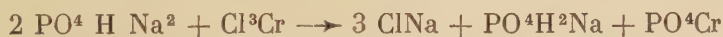
b) les *hydroxydes de potassium et de sodium* donnent le même précipité que l'ammoniaque mais celui-ci est facilement soluble dans un excès de réactif avec formation d'anion chromeux (chromite CrO^2K).



L'hydroxyde de chrome se comporte comme un acide faible. La réaction est réversible. La présence de beaucoup d'eau, ainsi que l'élévation de la température, déplacent l'équilibre vers le membre de gauche de la dernière réaction. En faisant bouillir les solutions étendues, l'hydrolyse a lieu complètement ; l'hydroxyde de chrome précipite de nouveau presque quantitativement.

2° les *carbonates alcalins, le carbonate de baryum et les hyposulfites alcalins* précipitent l'hydroxyde chromique des solutions de sels chromiques.

3° l'*anion phosphorique (phosphates alcalins)* donne un précipité vert de phosphate chromique



Ce précipité est soluble à froid dans les acides minéraux et l'acide acétique. Par ébullition de la solution acétique, le phosphate reprécipite.

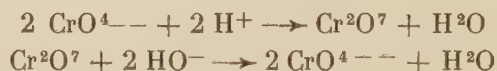
4° l'*anion acétique (acétates alcalins)* ne donne pas de précipité avec les cations chromiques, ni à froid, ni à chaud. Mais s'il y a en même temps de grandes quantités de cations Al^{+++} et Fe^{+++} , le chrome précipite presque quantitativement avec l'aluminium et le fer à l'état d'acétate basique. Une partie seulement de ces métaux précipite à l'état de sel basique si le cation Cr^{+++} prédomine. Le filtrat renferme des proportions plus ou moins grandes des trois cations trivalents.

5° l'hydrogène sulfuré ne donne pas de précipité avec les cations chromiques en présence de cations hydrogène.

Caractères analytiques des anions chromique et bichromique.

A l'anhydride chromique se rattachent les chromates et les bichromates. L'acide chromique CrO^4H^2 n'a pas été isolé. Il est possible de conclure de la coloration d'une solution d'un chromate, la nature de l'anion qui s'y trouve ; les chromates en solution sont jaunes et les bichromates rouge orangé.

L'addition d'acide à une solution d'anion CrO^{4-} (chromate) fait passer la coloration à l'orangé par suite de la formation d'anion Cr^2O^{7-} . Au contraire, l'anion Cr^2O^{7-} est transformé de nouveau en anion CrO^{4-} par addition d'anions oxyhydryles (alcalis caustiques ou carbonates alcalins) et la solution redevient jaune.



Les chromates alcalins, les chromates de calcium, de strontium et de magnésium sont solubles dans l'eau. Tous les chromates se dissolvent dans l'acide nitrique, le chromate de plomb fondu s'y dissout très difficilement.

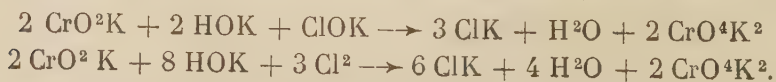
Les sels chromiques sont souvent transformés en chromates par oxydation pour être ensuite caractérisés ou dosés sous cette forme.

Formation des anions chromiques.

A. — OXYDATION DES CATIONS CHROMIQUES.

1° *L'oxydation des composés chromiques solubles se fait généralement en solution alcaline :*

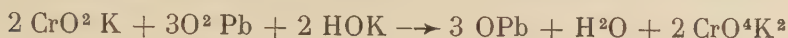
a) Par les halogènes et les hypochlorites. Le cation chromique traité par un hypochlorite (eau de javel, chlorure de chaux) ou bien par une lessive de potasse ou de soude en excès et un courant de chlore, ou encore par une lessive alcaline et du brome, est oxydé en quelques minutes. La solution verte devient jaune clair.



Les chromites s'oxydent de même par les halogènes en présence

d'acétate de sodium ; la réaction a lieu lentement à froid, rapidement à chaud.

b) Par le bioxyde de plomb en milieu alcalin. La solution de sel de chrome est portée à l'ébullition avec le bioxyde de plomb.



c) Par l'eau oxygénée. La réaction s'effectue à chaud.



d) Par le bioxyde de manganèse fraîchement précipité l'oxydation se produit à chaud en solution neutre ou faiblement acide.



2° *L'oxydation en solution acide peut s'effectuer :*

a) Par le chlorate de potassium en présence d'acide nitrique concentré.

b) Par le bromate de potassium. KOLTHOFF et LUNDELL [53] ont préconisé ce procédé pour oxyder le chrome dans les aciers chromés ; l'opération s'effectue en présence d'acide chlorhydrique ; l'excès d'oxydant est décomposé par ébullition avec du sulfate d'ammonium.

c) Par l'acide perchlorique. La prise d'essai est traitée par un excès d'acide perchlorique $d = 1,61$ et portée à l'ébullition. Il se produit une coloration jaune.

Ce procédé a été préconisé par WILLARD et CAKE en 1919 pour oxyder l'oxyde chromique et ses sels. LICHTIN [57] en 1930 préconise l'emploi de l'acide perchlorique pour l'analyse de l'alun de chrome. JAMES [42] en 1930 donne quelques indications sur son emploi dans les aciers chromés.

WILLARD et GIBSON [89] l'utilisent également pour l'analyse des aciers chromés.

Le manganèse n'est pas oxydé sauf lorsqu'il y a une quantité considérable d'acide phosphorique.

d) Par le persulfate de potassium et le nitrate d'argent.

Ce procédé d'abord utilisé par IBBOTSON et HOWDEN [38] donne de bons résultats, mais, le manganèse se trouve oxydé dans ces conditions à l'état de permanganate.

Ce procédé a été utilisé ensuite pour oxyder le chrome dans les aciers chromés par KELLEY et CONANT [50] en 1916, puis LUNDELL, HOFFMAN et BRIGHT en 1923 [60] et enfin WILLARD et YOUNG en 1928 [88].

B. — OXYDATION DES SELS CHROMIQUES INSOLUBLES.

L'oxydation des sels chromiques insolubles ou de l'oxyde chromique fortement calciné est effectuée en faisant une fusion au carbonate de sodium et au salpêtre, ou encore en utilisant le chlorate de potassium. La masse fondue, refroidie, est dissoute dans l'eau et soumise aux réactions ordinaires.

Réactions d'oxydation des anions chromiques.

Si le cation Cr^{+++} s'oxyde facilement, les anions CrO_4^{--} et CrO_7^{--} sont facilement réduits en solution acide. Acide chromique et chromates en solution acide sont des agents d'oxydation très puissants.



Il y a mise en liberté de 6 charges positives qui se portent sur les ions à oxyder. La coloration passe au vert.

C'est ainsi que les anions chromiques oxydent :

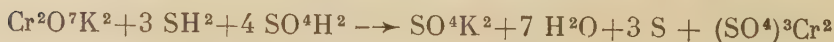
a) le cation ferreux à froid en cation ferrique



b) l'anion sulfureux qui est transformé en anion sulfurique à froid



c) l'hydrogène sulfuré donne à froid un précipité de soufre



d) l'anion oxalique, est oxydé lentement à froid, rapidement à chaud



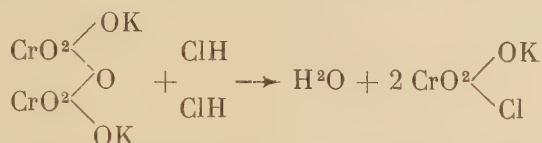
e) l'anion iode à froid



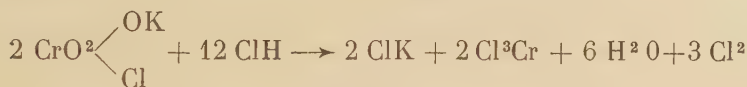
f) Action sur l'acide chlorhydrique. Avec l'acide chromique il y a production de Cl à chaud



Il faut toujours employer un excès d'acide chlorhydrique, sinon il se produirait du chlorochromate de potassium.

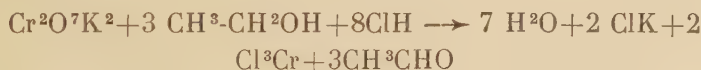


Celui-ci pour sa décomposition exige un excès d'acide chlorhydrique.



g) Action sur l'alcool. L'acide chromique agit sur l'alcool en présence d'acide chlorhydrique pour l'oxyder à l'état d'aldéhyde.

La réaction se produit avec un léger échauffement et sans dégagement de chlore.



h) Action de l'acide sulfurique concentré.

Les chromates et bichromates se réduisent en milieu acide sulfurique concentré à chaud. Ceci a été démontré par JACQUELAIN [40].



Réactions de précipitation des anions chromiques.

1° *Le cation argent* $\text{Ag}^+(\text{NO}^3\text{Ag})$ donne en solution neutre un précipité brun rouge de chromate d'argent.



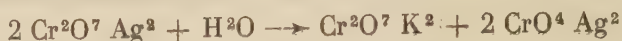
Ce précipité est soluble dans l'ammoniaque et les acides minéraux. L'acide chlorhydrique le transforme en chlorure d'argent insoluble. Le chromate d'argent est presque insoluble dans l'acide acétique.

L'addition de nitrate d'argent à une solution modérément con-

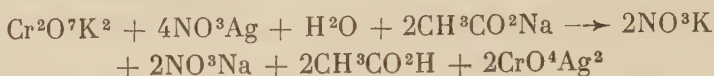
centrée de bichromate de potassium, provoque l'apparition d'un précipité rouge brun de bichromate d'argent.



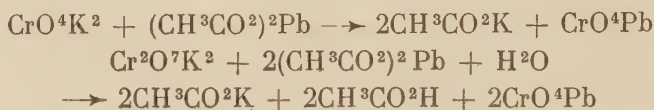
Celui-ci se transforme à l'ébullition en chromate d'argent.



Si la solution de bichromate est additionnée d'acétate de sodium, le nitrate d'argent précipite à l'état de chromate d'argent.



2° *Le cation Pb⁺⁺ (acétate de plomb)* donne un précipité jaune de chromate de plomb avec les solutions de chromates et de bichromates. Ce précipité est soluble dans l'acide nitrique ou la soude et insoluble dans l'acide acétique.



L'emploi de nitrate de plomb comme réactif, ne donne de précipitation complète qu'après addition d'acétate de sodium en raison de la solubilité du chromate de plomb dans l'acide nitrique.

3° *Le cation Ba⁺⁺ (Cl²Ba)* donne à froid un précipité jaune de chromate de baryum



Ce précipité est soluble dans les acides minéraux, insoluble dans l'acide acétique. La précipitation n'est complète dans les solutions de bichromate que par addition d'acétate de sodium.

4° *Le cation mercure Hg⁺ (nitrate mercurieux NO³ Hg)* donne à froid un précipité brun amorphe de chromate mercurieux



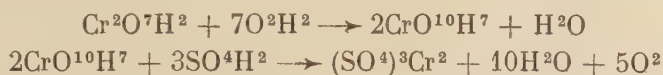
par ébullition le précipité se transforme en chromate de mercure, cristallin rouge vif.

Anions perchromiques.

D'après RIENSENFELD, il y a deux anions perchromiques ; l'un bleu, relativement stable en présence de cations hydrogènes,

Cr O¹⁰----- de valence⁷, correspondant à l'acide perchromique Cr O¹⁰H⁷; l'autre rouge Cr O⁸---, trivalent, stable en présence d'anions oxhydyles, correspondant aux perchromates Cr O⁸K³.

1° En présence de cations hydrogène (solution acide) les bichromates donnent une coloration bleue intense avec l'eau oxygénée; cette coloration disparaît vite et il apparaît une teinte verte par formation de cations chromiques.



L'acide perchromique est facilement soluble dans l'éther qui se colore en bleu. L'acide perchromique est plus stable en solution étherée qu'en solution aqueuse.

La réaction s'effectue de la façon suivante : 1 à 2 cm³ de la solution d'eau oxygénée sont traités par un peu d'acide sulfurique étendu et par 2 cm³ d'éther environ. Agrès agitation, quelques gouttes de la solution de chromate sont ajoutées; une nouvelle agitation fait apparaître une teinte bleue intense dans la couche surnageante d'éther. La coloration serait encore visible pour 0 mg. 007 d'acide chromique.

Selon DENIGÈS [15], il est possible de se passer d'éther en opérant en milieu acétique. Il indique le mode opératoire suivant : « on met dans un tube à essai quelques cm³ de solution de chromate si elle est très diluée, quelques gouttes et même une goutte seulement si elle est concentrée et 1 cm³ 5 à 2 cm³ d'eau oxygénée à dix volumes ou une quantité équivalente d'après son titre. Quand l'eau oxygénée est neutre ou légèrement alcaline, le mélange reste jaune; lorsqu'elle est acide, la teinte devient jaune foncé puis rougeâtre, enfin rouge violacé à mesure que le volume des affusions augmente. On peut d'ailleurs arriver au même résultat, même avec une eau oxygénée neutre ou légèrement alcaline, si l'on acidule au préalable la prise de chromate avec deux ou trois gouttes d'acide acétique.

Quoi qu'il en soit, on ajoute au mélange final son volume d'acide acétique cristallisable et on obtient une coloration bleue plus ou moins intense suivant la dose de chromate ou de bichromate présent dans le liquide.

« Pour appliquer ce procédé à la recherche des sels de chrome, on additionne quelques gouttes ou quelques cm³ suivant la concen-

tration des solutions de ces sels de 1 cm³ 5 à 2 cm³ d'eau oxygénée à dix volumes ou une quantité proportionnelle de ce réactif suivant son titre.

On ajoute quelques gouttes de solution de soude ($d = 1,33$) et l'on constate dans le cas de la présence d'un sel de chrome que le mélange prend d'abord une teinte orangée caractéristique qui, lentement à froid, rapidement à chaud, passe au jaune clair. Si la coloration finale était jaune verdâtre, c'est qu'on aurait employé une dose insuffisante d'eau oxygénée pour transformer tout le sel de chrome en chromate et il faudrait en ajouter une nouvelle quantité afin d'amener une oxydation complète de ce sel et de laisser un excès de réactif. Ce point étant atteint et le mélange devenu jaune clair étant complètement refroidi, on est ramené au cas précédent, c'est-à-dire qu'il suffit d'ajouter un peu plus d'eau oxygénée et autant d'acide acétique que de liquide, pour obtenir la teinte bleue caractéristique. »

2° Une solution froide, alcaline, d'un chromate, traitée par l'eau oxygénée neutre, se colore en rouge par suite de la formation de l'anion Cr O^{8-} —



La coloration rouge disparaît peu à peu avec dégagement d'oxygène et reformation d'anion chromique



Une solution aqueuse froide de bichromate de potassium, traitée par l'eau oxygénée, se colore en violet (il se forme probablement un troisième acide perchromique $\text{Cr O}^7\text{H}^3$) ; mais la coloration violette disparaît rapidement avec dégagement d'oxygène et régénération de bichromate.

Les solutions rouge ou violette traitées par l'éther, ne le colorent pas.

Réactions du chrome par voie sèche.

En dehors des réactions courantes des dérivés du chrome, que nous venons de citer, il existe des réactions du chrome par voie sèche.

1° Tous les composés du chrome colorent la perle de borax ou de

sel de phosphore en vert émeraude, soit dans la flamme oxydante, soit dans la flamme réductrice.

2° Sur le charbon, avec le carbonate de sodium, tous les composés du chrome chauffés au chalumeau, donnent une scorie verte qui, par chauffage prolongé, laisse de l'oxyde de chrome vert infusible.

En dehors des procédés de recherches chimiques du chrome cités précédemment, il existe un procédé physique de recherche d'une grande sensibilité : la recherche par voie spectrographique.

Recherche qualitative du chrome par spectrographie.

Nous n'entrerons pas dans le détail du principe de cette technique ni de l'appareillage, puisque nous ne l'avons pas employée dans nos études toxicologiques.

L'analyse spectrale est devenue une méthode courante de laboratoire surtout depuis les travaux de A. GRAMMONT [34] et de G. URBAIN [85].

Pour l'examen du spectre, on utilise ordinairement le spectrographe. Celui-ci permet d'enregistrer l'image d'un spectre provenant d'une émission presque instantanée, avec une quantité de substance infime, et le repérage des raies s'effectue sur la plaque photographique, à loisir, et plus commodément qu'en examinant le champ d'un spectroscopie.

On emploie généralement les spectres d'étincelles. Ceux-ci peuvent être obtenus au moyen du générateur d'étincelles Beaudoin, à haute fréquence, préconisé par E. BAYLE, R. FABRE et H. GEORGE [2].

De nombreux auteurs ont employé la technique spectrographique pour rechercher les très faibles quantités de chrome. DUTOIT et ZBINDEN [20] ont ainsi pu trouver du Cr dans les tissus humains ; ZBINDEN [93] dans le lait, DINGWALL et BEANS [16] dans certaines tumeurs. On trouvera dans les publications de ces auteurs une description de la technique utilisée.

BAYLE et AMY [1] isolent d'abord le chrome par électrolyse. Ils ont augmenté la sensibilité de la recherche spectrographique en effectuant le dépôt métallique par électrolyse sur une très faible surface.

La sensibilité indiquée par ces auteurs est de 10^{-7} g.

La plupart des diverses réactions du chrome que nous venons de citer peuvent être utilisées pour caractériser le métal dans un résidu de destruction perchlorique. Nous verrons par la suite que leur emploi n'est pas nécessaire pour identifier le chrome ; l'usage de la réaction à la diphénylcarbazine permet d'affirmer si le milieu contient ou non du chrome.

Outre sa spécificité, cette réaction présente l'avantage, sur les autres procédés, d'être d'une sensibilité extrême puisque par essai à la touche, il est possible d'identifier 0,005 de chrome.

Nous traitons de cette réaction, en détail, dans le chapitre « Dosage du chrome ».

Recherche colorimétrique du chrome hexavalent par la diphénylcarbazine.

Les chromates et bichromates agissent en liqueur acide sur la diphénylcarbazine $\text{CO} \begin{cases} \text{NH-NH-C}^6\text{H}_5 \\ \text{NH-NH-C}^6\text{H}_5 \end{cases}$ en solution alcoolique pour donner une coloration rouge violette très sensible.

Ce réactif a été d'abord utilisé par CAZENEUVE [8] pour la recherche des traces de cuivre. Un certain nombre de métaux donnent une réaction colorée avec ce réactif ; la plupart agissent en milieu neutre ou alcalin (mercure, cuivre, nickel, cobalt), d'autres réagissent en milieu acide (fer, molybdène, chrome).

Par l'emploi d'un réactif acétique, proposé par STOVER [81], le trouble dû aux métaux du premier groupe est éliminé. Ce réactif est obtenu en dissolvant 0 g. 20 de diphénylcarbazine dans 10 cm³ d'acide acétique cristallisable ; le volume est complété à 100 cm³ par de l'alcool à 95°.

Ce réactif présente un gros inconvénient : celui de s'altérer rapidement au contact de l'air en donnant une solution colorée en rose puis en rouge.

Dans ces conditions, la recherche de traces infimes de métal devient difficile, sinon impossible, le réactif étant déjà coloré. Il faut alors préparer le réactif au moment du besoin pour éviter ce trouble.

Nous préférons utiliser la formule suivante qui donne un réactif

très stable. 0 g. 20 de diphénylcarbazine sont dissous dans 100 cm³ d'alcool à 95° et la solution est conservée dans un flacon compte-gouttes.

Ce réactif est très sensible puisque par essai à la touche nous avons pu identifier 0 γ 005 de chrome hexavalent, soit $\frac{5}{(1.000.000)}$ de mg. en solution sulfurique. C'est la limite de sensibilité de la réaction.

La réaction du chrome hexavalent avec la diphénylcarbazine est plus sensible en milieu sulfurique qu'en solution acide organique. Ceci avait déjà été indiqué par STOVER (ce qui n'empêche pas de nombreux auteurs, STOVER lui-même en particulier, de préconiser l'emploi de divers acides organiques pour acidifier le milieu). Voici les chiffres indiqués par STOVER : La coloration violette se produit pour

1 Cr : 100.000.000 à 1 : 250.000.000	en solution sulfurique
1 Cr : 70.000.000	en solution acétique
1 Cr : 12.500.000	en solution citrique

K. HELLER et P. KRUMHOLZ [36] ont donné une technique par essai à la touche avec une solution alcoolique à 1 % de diphénylcarbazine. Après transformation en chromate par l'eau de brome et élimination de l'excès de brome par le phénol, la solution est acidifiée par l'acide sulfurique. 0 γ 25 de chrome peuvent être identifiés par ce procédé.

Selon FEIGL, après transformation en chromate par fusion avec de la soude et du peroxyde de sodium, il est possible, après acidification, de reconnaître 0 γ 02 de chrome par la diphénylcarbazine.

La réaction présente une remarquable stabilité.

La coloration rouge violette est obtenue également avec les sels de mercure.

F. FEIGL et P. KRUMHOLZ [27] identifient 0 γ 3 de CrO³ dans 1 cm³ en présence de 0 g. 06 de NO³Hg après dissociation des ions mercuriques par le chlorure de sodium. Pour identifier le chrome en présence de mercure la solution alcaline de chromate est acidifiée par l'acide chlorhydrique. Il est possible par ce procédé de retrouver 0 γ 25 de Cr, en présence de 2 mg. 5 de mercure, par essai à la touche [27].

FEIGL élimine le trouble dû à l'action du molybdate sur la diphénylcarbazine en ajoutant de l'acide oxalique jusqu'à formation

du complexe Mo-Acide oxalique. La limite de sensibilité est de 0 γ 5 de chrome pour 2.000 fois plus de MoO^4 .

FEIGL détermine 0 γ 5 de CrO^4K^2 en présence de 3 mg de MnO^4K après réduction du permanganate par l'azoture de sodium.

IBBOTSON et R. HOWDEN [38] ont décrit une technique d'oxydation catalytique des sels chromiques par le persulfate en solution acide, en présence de sels d'argent. Ils terminent comme FEIGL et WEIDENFELD [28] par la réaction à la diphénylcarbazine. Dans 1 cm^3 on peut trouver 0 γ 15 de chrome et par essai à la touche 0 γ 08 de chrome.

Nous avons recherché si la réaction du chrome hexavalent avec la diphénylcarbazine était spécifique du chrome et s'il existait un moyen d'éliminer le trouble dû à l'action de certains métaux sur le réactif.

Elimination du trouble dû à l'action des différents métaux sur la diphénylcarbazine.

Le molybdène, en liqueur acide, donne avec la diphénylcarbazine une teinte rose violet, si, à cette solution acide, on ajoute de l'acide oxalique jusqu'à formation du complexe molybdène-acide oxalique, l'addition ultérieure de diphénylcarbazine ne donne pas de coloration.

Il suffit donc d'ajouter un excès d'acide oxalique pour éliminer le molybdène. Dans ces conditions, il est possible de déterminer une partie de chrome pour 6 à 7.000 parties de molybdène.

Un certain nombre de métaux réagissent avec la diphénylcarbazine en milieu neutre ou alcalin (nickel, cobalt, cuivre, mercure). Cette réaction a été utilisée fréquemment pour caractériser le chrome et le mercure à l'état de traces. Le mercure donne une coloration bleu pensée, en solution neutre, et le cuivre une coloration rouge orangé qui passe, par agitation, dans le benzène, le chloroforme ou le sulfure de carbone.

Par addition d'acide sulfurique en léger excès, la combinaison de ces métaux avec la diphénylcarbazine ne peut plus s'effectuer.

Il est possible d'identifier 1 partie de chrome pour 10.000 parties de cuivre, nickel, cobalt ou mercure, en opérant en milieu acide sulfurique.

Le manganèse, sous forme de permanganate, pourrait empêcher,

par sa coloration, de voir la réaction du chrome, où, s'y ajouter et provoquer une erreur par excès. Il est donc nécessaire de décomposer le permanganate avant de rechercher le chrome ; dans ce but, nous avons utilisé l'acide chlorhydrique à chaud. Dans ces conditions, nous avons pu identifier sans difficulté 1 partie de chrome pour 700 de manganèse.

Nous avons trouvé une citation de CAZENEUVE [8] sur le trouble dû au Fer dans la réaction Cr hexavalent-diphénylcarbazine.

Les sels ferriques réagissent sur le réactif en milieu sulfurique (c'est-à-dire dans les mêmes conditions que le chrome) en donnant une coloration jaune orangé allant en croissant et variant suivant la teneur en fer.

Cette coloration peut masquer complètement celle du chrome ou s'y ajouter (tout dépend de la quantité de fer), il en résulte une teinte rouge sale empêchant tout dosage colorimétrique, la teinte n'étant plus comparable à celle du témoin.

Nous avons cherché à éliminer le trouble dû au fer par divers procédés. Nous nous sommes arrêté à l'emploi de l'acide phosphorique (la précipitation du fer, en forte quantité par rapport au chrome, a donné lieu à une perte en chrome dans les autres techniques utilisées).

Dans notre technique, nous n'éliminons pas le fer, mais nous empêchons son action sur la diphénylcarbazine par la simple addition, au milieu, d'acide phosphorique.

Pour nos essais nous avons utilisé une solution de sulfate ferreux dont $1\text{ cm}^3 = 1\text{ mg. } 58\text{ de Fe}$. Nous avons étudié l'action de quantités croissantes d'acide phosphorique et recherché si par addition de diphénylcarbazine il se produisait encore une coloration.

TABLEAU N° I.

Action inhibitrice de l'acide phosphorique sur la combinaison du fer avec la diphénylcarbazine.

Fe	PO_4H_3 D = 1,35	H ₂ O	SO ₄ H ₂	Réactif	Réaction
mg.	goutte	cm ³	gouttes	cm ³	
N° 1 0,58	1	5	2	0,4	positive
N° 2 0,58	2	—	—	—	faiblement positive
N° 3 0,58	3	—	—	—	—
N° 4 0,58	4	—	—	—	très faiblement positive
N° 5 0,58	5	—	—	—	négative
N° 6 0,58	6	—	—	—	négative

Le n° 6 est incolore. L'augmentation de la quantité d'acide phosphorique entraîne une diminution de la coloration donnée par le Fer avec la diphénylcarbazine. Il y a donc intérêt à employer un excès d'acide phosphorique.

Par addition de 0 γ 5 de chrome hexavalent au n° 5 la réaction est nette et permet le dosage (s'il n'y avait pas eu addition d'acide phosphorique le dosage serait impossible dans ces conditions).

Ceci représente une partie de chrome pour 1.000 parties de fer.

Dans un autre essai 0 mg. 58 de Fer dans 5 cm³ d'eau sont traités par cinq gouttes d'acide sulfurique et cinq gouttes d'acide phosphorique ; avec 0 cm³ 4 de réactif, on obtient en présence de 0 γ 14 de Cr^{VI} une coloration rose analogue au témoin préparé avec cinq gouttes d'acide sulfurique et de PO⁴H³, 5 cm³ d'eau, 0 cm³ 4 de réactif et 0 γ 14 de Cr^{VI}.

Ceci représente une partie de chrome pour plus de 3.500 parties de fer.

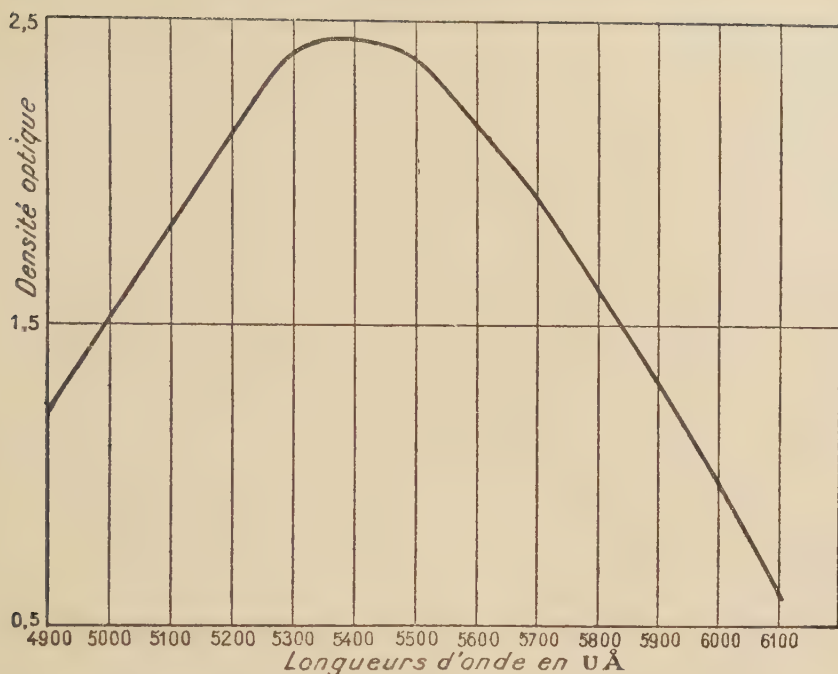
Toutefois, pour des quantités très importantes de sels de fer il faut effectuer rapidement la lecture colorimétrique, le fer donnant à la longue une coloration jaune sale.

Il est donc possible d'identifier le chrome hexavalent en présence des divers métaux susceptibles de réagir avec la diphénylcarbazine en se plaçant dans des conditions bien définies. Nous avons cherché si le spectrophotomètre serait susceptible de confirmer la spécificité de la réaction colorée donnée par le Cr avec la diphénylcarbazine.

EXAMEN AU SPECTROPHOTOMÈTRE DE LA COLORATION CHROME HEXAVALENT DIPHÉNYLCARBAZIDE.

Il était intéressant d'étudier si cette combinaison présentait une ou plusieurs bandes et s'il était possible d'obtenir au spectrophotomètre une courbe d'absorption caractéristique.

Nous avons opéré à des concentrations variables en Cr hexavalent. Nous n'avons pas obtenu de bande bien délimitée mais simplement une plage d'absorption plus intense en un point, s'estompant graduellement de part et d'autre. Par contre nous avons obtenu une courbe d'absorption caractéristique présentant un maximum vers 5.300 unités Angström. De 5.300 à 5.500^u_Å se trouve un palier puis la courbe redescend progressivement.



Courbe d'absorption
au spectrophotomètre de la combinaison Cr-diphénylcarbazide.

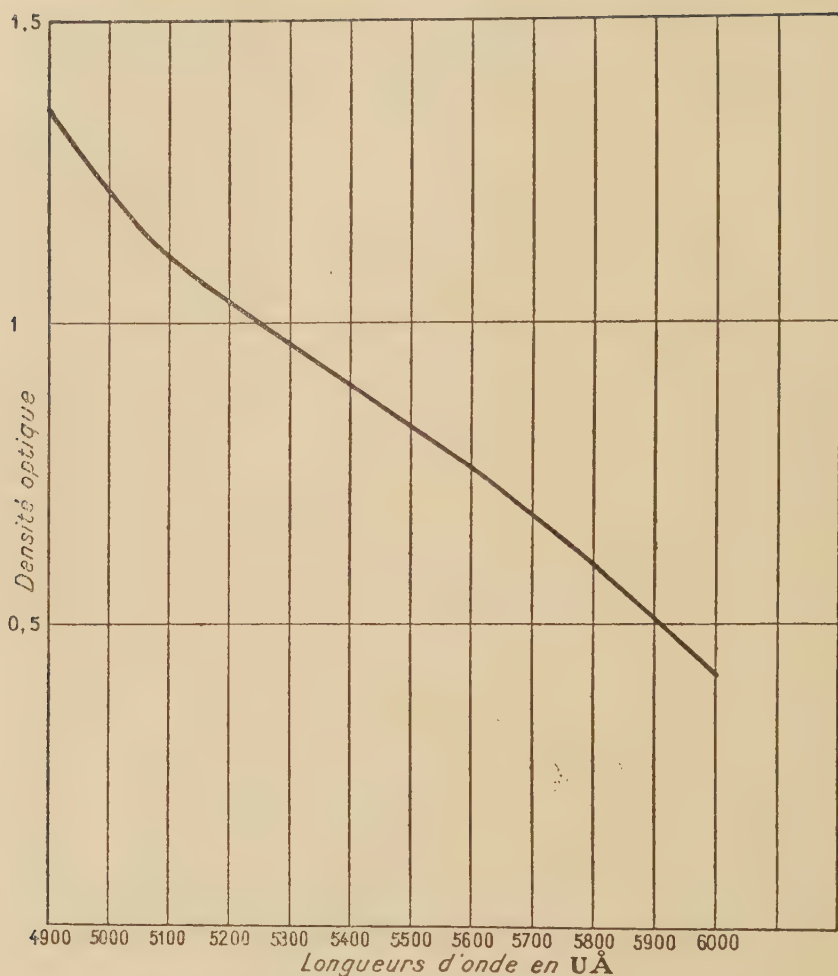
Nous avons cherché si, par dilution, la courbe conservait les mêmes caractères entre 5.300 et 5.500 $\text{\AA}$. Nous avons toujours obtenu une courbe de même allure avec palier de 5.300 à 5.500 $\text{\AA}$.

Les sels ferriques étant susceptibles de provoquer des troubles dans le dosage colorimétrique du chrome, par suite de la combinaison colorée qu'ils donnent avec le réactif à la diphénylcarbazide, il nous a semblé intéressant d'examiner au spectrophotomètre cette coloration. Nous n'avons obtenu ni bandes ni courbe caractéristiques (celle-ci étant représentée par une ligne droite).

L'examen au spectrophotomètre d'un mélange de chrome hexavalent et de sulfate ferrique, en solution sulfurique, traité par le réactif alcoolique de diphénylcarbazide, permet de retrouver la courbe caractéristique de la combinaison Cr-diphénylcarbazide.

Par addition au milieu d'acide phosphorique, l'action perturbatrice du fer est supprimée et l'examen au spectrophotomètre permet de mettre en évidence la courbe caractéristique du chrome.

Par conséquent, l'étude au spectrophotomètre pourra se faire sur le produit ayant servi à la recherche colorimétrique, puisque l'acide phosphorique ne gêne pas cet examen.



Examen au spectrophotomètre
de la combinaison du fer avec la diphenylcarbazide.

En résumé, il est donc possible d'identifier le chrome hexavalent en présence des divers métaux susceptibles de réagir avec la diphenylcarbazide. Il suffit, en effet, de passer en milieu acide sulfurique pour éliminer le nickel, le cobalt, le cuivre et le mercure, de décomposer, à chaud, le permanganate par l'acide chlorhydrique et d'ajouter quelques cm^3 d'acide phosphorique pour éviter la combinaison du fer avec la diphenylcarbazide.

DOSAGE DU CHROME

Le premier point que nous avons eu à résoudre dans nos recherches sur la Toxicologie des dérivés du chrome, a été d'obtenir un microdosage permettant de retrouver les moindres traces du métal dans les viscères des animaux intoxiqués.

Avant de décrire les techniques que nous avons adoptées et les raisons qui nous les ont fait préférer, nous rappellerons quelques généralités sur les procédés de dosage du chrome utilisés ordinairement.

Dosage gravimétrique.

a) POUR LES CATIONS CHROME (Cr^{+++} et cations complexes) le dosage est effectué ordinairement à l'état de sesquioxyde de chrome.

1° *Précipitation par l'ammoniaque ou le sulfure d'ammonium.* — Lorsque le chrome se trouve à l'état de cation (sel dérivant du sesquioxyde), il est précipité à l'ébullition sous forme d'hydroxyde comme pour l'aluminium. La précipitation est effectuée en présence d'une grande quantité de cations NH_4^+ , mais en utilisant un excès d'ammoniaque aussi faible que possible.

L'emploi d'un excès d'ammoniaque rend la précipitation de l'hydroxyde incomplète ; la solution filtrée est colorée en rose ; dans ce cas, il faut chauffer la liqueur jusqu'à disparition de l'odeur d'ammoniaque ; l'hydroxyde précipite alors complètement.

Au lieu d'employer l'ammoniaque, il est possible d'utiliser le sulfure d'ammonium fraîchement préparé ; le précipité est lavé avec de l'eau contenant du nitrate d'ammonium. Le filtre humide est incinéré dans un creuset de platine, le résidu est calciné et pesé.

Les résultats obtenus sont toujours de quelques dixièmes pour cent trop forts ; cela tient à des quantités appréciables de chromates alcalins qui se forment, même lorsque l'opération est faite entiè-

rement dans des vases de platine. L'alcali provient des réactifs.

L'oxyde chromique calciné contient toujours des chromates, car l'extrait aqueux de cet oxyde possède une coloration jaune et donne un précipité rouge de chromate d'argent avec l'azotate d'argent.

Lorsqu'il y a de l'acide phosphorique (ce qui est le cas dans les tissus animaux) celui-ci se trouve dans le précipité. Dans ce cas, le précipité sec est fondu dans un creuset de platine avec du carbonate de sodium et du salpêtre. Il y a formation de chromate et de phosphate de sodium.

Pour éliminer ce dernier, la masse fondue est reprise par l'eau, la solution acidulée à l'acide nitrique puis rendue ammoniacale et l'anion PO_4H^3 est précipité par la mixture magnésienne.

Dans la liqueur filtrée, séparée du phosphate ammoniaco-magnésien, le chrome est précipité, à l'état de chromate de baryum, par exemple, après avoir acidifié par l'acide acétique.

2° Précipitation à l'aide d'une solution d'iodure et d'iodate de potassium, d'après Stock. — Le dosage rappelle celui de l'aluminium. La solution doit être faiblement acide ; si elle est très acide, elle est neutralisée par une solution de potasse jusqu'à commencement de précipitation. L'addition du mélange, en excès, d'iodure et d'iodate est faite dans une capsule de porcelaine. Après 5 minutes l'iode libéré est neutralisé par l'hyposulfite de sodium.

Pour s'assurer que la réaction est achevée, la liqueur est traitée à nouveau par un peu d'iodure et d'iodate de potassium, puis ensuite par 1 à 2 cm^3 de solution d'hyposulfite de sodium. La solution est ensuite portée au bain-marie une demi-heure. Le précipité floconneux d'hydroxyde chromique se dépose rapidement et est décanté de préférence sur un entonnoir à filtration chaude et sous pression réduite. Le précipité est lavé à l'eau chaude. Le filtre humide est incinéré dans un creuset de platine et le résidu est pesé après refroidissement.

3° Précipitation par le nitrite d'ammonium, d'après Schirm. — Si la solution de sels chromiques a une réaction acide, elle est traitée par l'ammoniaque jusqu'à ce qu'il se produise un léger trouble persistant ; le précipité est dissous par addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique. La solution est additionnée d'un excès de nitrite d'ammonium à 6 % et chauffée jusqu'à ce qu'il ne se

dégage plus de peroxyde d'azote. La majeure partie du chrome précipite, sauf de très petites traces.

Pour précipiter celles-ci, après avoir chassé le peroxyde d'azote, il faut ajouter goutte à goutte de l'ammoniaque jusqu'à odeur persistante. Le dépôt s'effectue au bain-marie ; la solution est filtrée et le précipité lavé à l'eau chaude. L'incinération du filtre humide est faite dans un creuset de platine, puis le résidu de sesquioxide est pesé.

b) POUR LES ANIONS CHROMIQUES (CrO^{4-} — et $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) le dosage gravimétrique peut s'effectuer :

1^o *A l'état de sesquioxide.* — Après réduction à l'état de sels chromiques par un des procédés cités au chapitre « Recherche qualitative du Chrome ». Les plus fréquemment utilisés sont l'alcool en présence d'acide chlorhydrique ou l'anhydride sulfureux. La précipitation de l'hydroxyde pourra être faite par l'un ou l'autre des trois procédés cités ci-dessus.

2^o *Dosage par le chromate mercurieux.* — Lorsque le chrome se trouve en solution à l'état de chromate alcalin, exempt de chlore et de trop grandes quantités d'acide sulfurique, il peut être dosé très exactement par précipitation à l'état de chromate mercurieux par l'ion Hg^+ (sous forme d'une solution de nitrate mercurieux). Le précipité est transformé par calcination en oxyde chromique, qui est pesé après refroidissement.

La solution neutre ou faiblement nitrique est traitée par une solution de nitrate mercurieux pur ; il se forme du chromate mercurieux brun CrO_4Hg . Si la solution est chauffée à l'ébullition, le précipité devient cristallin, rouge vif, et se dépose rapidement.

La fin de la précipitation se reconnaît à la décoloration du liquide surnageant. Après refroidissement, le précipité est filtré et lavé à fond avec de l'eau chargée de nitrate mercurieux ; le précipité séché est mis dans un creuset de platine ; le filtre est incinéré à part et ses cendres sont réunies au précipité dans le creuset. Celui-ci est calciné fortement sous une hotte tirant bien et le résidu d'oxyde chromique est pesé après refroidissement.

Cette méthode excellente, de dosage du chrome, a cependant un emploi restreint. Notamment si la solution de chromate contient des quantités appréciables de chlorures, il précipite avec le chromate

mercureux, de grandes quantités de chlorure mercureux, et la méthode n'est plus exacte.

S'il s'agit de doser le chrome dans une solution contenant des chlorures, deux moyens peuvent être utilisés :

- A. Faire bouillir la solution avec de l'acide sulfureux ou avec de l'acide chlorhydrique concentré et de l'alcool. La précipitation de l'hydroxyde est effectuée ensuite par un des procédés classiques.
- B. Ou encore, beaucoup plus simplement, le chrome est séparé à l'état de chromate de baryum qui est pesé après une légère calcination.

3° *Dosage à l'état de chromate de baryum.* — La solution neutre ou légèrement acidulée à l'acide acétique est précipitée à l'ébullition, en ajoutant goutte à goutte une solution d'acétate de baryum. Si l'acétate de baryum est ajouté trop rapidement, il se produit un entraînement de l'acétate de baryum par le chromate de baryum et les résultats sont trop élevés.

La filtration est effectuée après quelque temps sur un creuset de Gooch (Il ne faut pas une forte différence de pression parce que le filtre d'amiante se bouche et la filtration devient très lente).

Le précipité est lavé avec de l'alcool étendu, puis séché à l'étuve.

Le creuset est fixé à l'aide d'un anneau d'amiante dans un creuset de porcelaine plus grand. Le creuset couvert est d'abord chauffé lentement à feu nu, ensuite à la pleine flamme d'un bon bec Bunsen. Après cinq minutes environ, le couvercle est enlevé et le chauffage continué jusqu'à ce que la masse devienne uniformément jaune. Après refroidissement la pesée est effectuée.

Quelquefois, le précipité apparaît vert sur les parois du creuset, par suite d'une légère désoxygénation à l'état de sesquioxyde (poussières-traces d'alcool). Mais, par calcination prolongée en creuset ouvert il y a oxydation et disparition de la teinte verte.

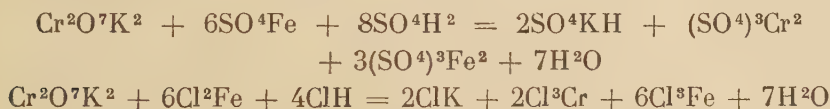
4° *Dosage à l'état de chromate de plomb.* Le dosage des chromates solubles peut s'effectuer à l'état de chromate de plomb. La précipitation est effectuée par l'acétate de plomb en présence d'acide acétique. La solution est filtrée et le précipité, après lavage, est séché à 100 degrés puis pesé après refroidissement.

Dosage volumétrique.

L'action oxydante des chromates et des bichromates en solution acide a permis d'utiliser les méthodes volumétriques pour doser le chrome.

1^o Procédé au sel ferreux.

Lorsqu'une solution chlorhydrique ou sulfurique d'ions ferreux est traitée par une solution de bichromate alcalin, il se produit immédiatement la réaction suivante :



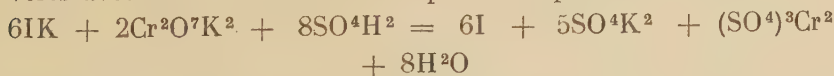
Par suite de la formation du cation Cr^{+++} , la solution se colore en vert émeraude.

La fin de la réaction est reconnue soit à la touche, en utilisant le ferricyanure de potassium qui donne, lorsqu'il y a du sel ferreux en excès, une coloration bleue, soit en titrant l'excès de sel ferreux à l'aide du permanganate jusqu'à coloration rose.

Lorsque la réaction à la touche est utilisée, il faut effectuer au moins deux titrages ; à cause des prélèvements le premier n'est qu'approximatif.

2^o Procédé à l'iode et à l'hyposulfite de sodium.

Si une solution acide d'iodure de potassium à 10 % est traitée par du bichromate de potassium, l'anion $\text{Cr}^2\text{O}^{7--}$ est transformé quantitativement à froid en cations Cr^{+++} ou en cations complexes verts avec mise en liberté d'une quantité équivalente d'iode.



Cette équation peut s'écrire en trois phases :

- (1) $6\text{IK} + 2\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2 + 5\text{SO}^4\text{H}^2 = 6\text{IH} + 2\text{CrO}^3 + 5\text{SO}^4\text{H}^2 + \text{H}^2\text{O}$
- (2) $6\text{IH} + 2\text{CrO}^3 = 6\text{I} + \text{O}^3\text{Cr}^2 + 3\text{H}^2\text{O}$
- (3) $\text{O}^3\text{Cr}^2 + 3\text{SO}^4\text{H}^2 = (\text{SO}^4)^3\text{Cr}^2 + 3\text{H}^2\text{O}$

Il est possible de doser les chromates et les bichromates par titrage à l'hyposulfite de l'iode déplacé mais à la condition d'opérer en milieu sulfurique ou chlorhydrique et en liqueur chromique

suffisamment diluée pour que la coloration verdâtre du sulfate de chrome n'empêche pas de voir la réaction finale.

En dehors des techniques de dosage du chrome par gravimétrie et volumétrie qui ont été exposées précédemment nous citerons quelques autres procédés :

Dosage gazométrique du chrome

par M. Couture [10]

Cette méthode est basée, sur la lecture du volume d'oxygène qui se dégage par action d'une quantité connue d'acide chromique sur un peroxyde alcalin ; ce volume est comparé avec celui produit par la solution à analyser mise à réagir dans les mêmes conditions.

Dosage colorimétrique du chrome

a) *Dosage au « Serichrome bleu R » de G. S. Spencer [78].*

La technique consiste à comparer, avec des échantillons étalons, la coloration produite par la présence de chrome sur un échantillon de fibre préalablement teinte avec du « Serichrome bleu R ».

PRÉPARATION DE LA FIBRE. — Ajouter successivement dans un Erlenmeyer de 125 cm³, 40 cm³ d'eau, 0 g. 1 de sulfate de sodium et 0 g. 02 d'acide sulfurique pour deux grammes de laine. Après agitation convenable, introduire 20 cm³ d'une solution à 0,5 % de sérichrome bleu R. Après chauffage 30 minutes au bain-marie, filtrer sur Büchner, laver jusqu'à disparition d'acidité et sécher.

PRÉPARATION DE LA GAMME D'ÉTALONS. — Dissoudre 0 g. 282 de bichromate de potassium dans 100 cm³ d'eau (1 cm³ = 1 mg. de Cr). A partir de cette solution en faire une à 0 mg. 01 par cm³.

A chacun des dix Béchers, ajouter 50 cm³ d'eau, 3 cm³ d'acide sulfurique normal (non titré) et 0 g. 1 de laine préalablement traitée comme ci-dessus. Après imprégnation des fibres ajouter des quantités de bichromate représentant de 0,01 à 0,1 mg. de chrome. Recouvrir d'un verre de montre et chauffer au bain-marie 30 minutes en agitant. Filtrer sur Büchner, laver et sécher. La coloration bleue développée est proportionnelle à la quantité de chrome présent.

ESSAI PROPREMENT DIT. — Pour reconnaître le chrome dans un

échantillon inconnu, séparer le chrome, le fer ferrique et l'aluminium sous forme d'hydroxydes. Filtrer sur amiante au creuset de Gooch et laver. Recueillir l'amiante et le précipité dans un bécher ; ajouter 30 cm³ d'eau et 3 cm³ de solution normale de soude. Bien mélanger et ajouter 5 cm³ d'eau oxygénée. Filtrer sous vide et acidifier le filtrat avec 3 cm³ d'acide sulfurique normal. Ajouter, en agitant, 0 g. 1 de laine teinte et chauffer au bain-marie pendant 20 à 30 minutes, le bécher étant recouvert d'un verre de montre. Filtrer, laver et sécher.

La présence de chrome est constatée par le développement d'une coloration bleue sur la fibre rouge. La comparaison est effectuée avec les étalons précédents.

Les acides molybdique, tungstique, vanadique, et permanganique, les sulfates ferreux et manganéux, l'alun de chrome ne produisent aucun changement de teinte. La réaction est caractéristique de l'acide chromique.

b) Dosage colorimétrique à la diphénylcarbazine.

Les chromates et les bichromates donnent, en solution acide avec la diphénylcarbazine, une coloration rouge violet très intense. Cette réaction est due à Cazeneuve [8] ; elle est d'une grande sensibilité puisque $\frac{1}{1000}$ de mg. donne encore une réaction très nette.

Mais de nombreux métaux réagissent avec la diphénylcarbazine. Nous reviendrons par la suite sur cette réaction que nous avons rendue applicable à la recherche et au dosage toxicologique du chrome.

Recherches sur le microdosage volumétrique et colorimétrique du chrome hexavalent.

Nous avons cherché à mettre au point une méthode rapide et précise permettant de doser des quantités de chrome inférieures au milligramme. Ce dosage devant nous servir à la recherche du chrome dans des organes d'animaux soumis à des intoxications par les différents dérivés du chrome, il nous a fallu abandonner, étant donné le grand nombre de dosages à effectuer, les procédés pondéraux utilisés ordinairement en raison de leur peu de rapidité et de sensibilité.

Ces motifs nous ont fait adopter un dosage volumétrique. Dans

ce but nous avons utilisé d'une part, le pouvoir oxydant de l'acide chromique sur l'iodure de potassium en titrant l'iode libéré par l'hyposulfite de sodium et, d'autre part, son action sur le sel de Möhr, l'excès de sel ferreux étant titré par le permanganate de potassium.

Cette méthode peut s'appliquer directement lorsque le chrome se trouve sous forme de chromate et de bichromate, à condition d'opérer en milieu acide. Pour doser le chrome dans les sels de chrome il faut transformer ceux-ci par oxydation en acide chromique. Nous avons étudié divers réactifs susceptibles d'oxyder quantitativement des traces de sels de chrome inférieures au milligramme.

Cette méthode ne permettant pas toutefois de descendre en dessous de quelques dixièmes de milligramme de chrome nous avons recherché par la suite une méthode plus sensible.

Pour cela nous avons utilisé la coloration rouge violette que donnent les chromates et les bichromates, en milieu acide, avec la diphenylcarbazine en solution alcoolique. Il est possible d'identifier 0,005 de chrome par essai à la touche à l'aide de ce réactif et de doser des quantités de l'ordre du millième de milligramme, ce qui donne une limite de sensibilité plus de cent fois supérieure à celle de la technique précédente.

L'examen au spectrophotomètre de la coloration donnée par le chrome hexavalent avec la diphenylcarbazine fournit une courbe d'absorption caractéristique, confirmant la spécificité de la combinaison.

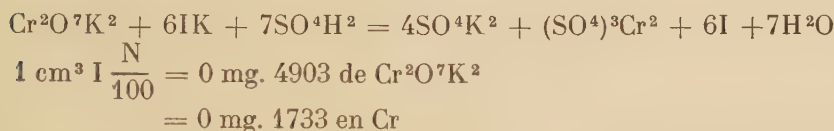
Pour nos essais nous avons utilisé du bichromate de potassium « pur Poulenc ». Ce sel a l'avantage d'être anhydre et de ne pas s'altérer. Nous l'avons purifié par dissolution dans son poids d'eau bouillante, en agitant pendant la cristallisation ; après refroidissement les eaux-mères sont décantées. Ce traitement est répété trois fois. Enfin le bichromate est desséché au bain-marie bouillant puis à l'étuve à 120° jusqu'à poids constant.

C'est ce composé que nous avons utilisé dans l'étude des micro dosages volumétriques et colorimétriques du Cr.

Etude critique de deux méthodes volumétriques de microdosage du chrome hexavalent

I. — DOSAGE VOLUMÉTRIQUE A L'IODE.

En milieu sulfurique, le bichromate agit comme oxydant sur l'iodure de potassium en libérant de l'iode qui est titré par l'hypo-sulfite de sodium, en présence d'empois d'amidon, jusqu'à décoloration.



Nous avons utilisé pour nos essais une solution à 1 g. pour 1000 préparée avec notre bichromate de potassium purifié. Nous en avons vérifié le titre par le procédé à l'iode ; voici les chiffres obtenus :

1,002 pour 1000 Erreur + 0,2 %
0,997 pour 1000 Erreur — 0,3 %

1^o Sensibilité du dosage.

Pour déterminer la limite de sensibilité du dosage, nous avons opéré sur des quantités de chrome décroissantes. Les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant :

TABLEAU N^o II.

Sensibilité du dosage à l'iode.

Chrome en mg		Erreur %
Quantité théorique	Quantité trouvée	
1,412	1,415	+ 0,2 %
—	1,40	— 0,80
—	1,414	+ 0,1
—	1,40	— 0,8
0,706	0,70	— 0,8 %
—	0,71	+ 0,5
—	0,705	— 0,10
—	0,701	— 0,60

Chrome en mg		Erreur %
Quantité théorique	Quantité trouvée	
0,353	0,357	+ 1,1 %
—	0,356	+ 0,8
—	0,359	+ 1,7
—	0,361	+ 2,2
0,1765	0,19	+ 7 %
—	0,181	+ 3
—	0,186	+ 5,6
—	0,19	+ 7,0

Ces dosages ont été effectués avec une microburette. Ce tableau montre qu'il ne faut pas songer à doser, par ce procédé, des quantités de chrome inférieures à 0 mg. 2 à 0 mg. 3, pour obtenir des résultats à 2 % près.

Nos recherches ultérieures, comportant le dosage en milieu très sulfurique par suite de l'utilisation de la méthode nitro-sulfo-perchlorique de Kahane pour détruire les matières organiques, nous avons étudié l'influence de fortes concentrations en acide sulfurique sur la réaction à l'iode.

Voici quelques résultats obtenus dans ces conditions.

2^o Influence de l'acidité.

TABLEAU N^o III.

Influence de l'acidité sur le dosage à l'iode.

Concentration en SO ⁴ H ²	Chrome en mg		Erreur %
	Quantité théorique	Quantité trouvée	
5 p. 100	1,412	1,455	+ 3,0 %
—	—	1,421	+ 0,6
—	—	1,438	+ 1,7
10 p. 100	1,412	1,427	+ 1 %
—	—	1,429	+ 1,1
—	—	1,455	+ 3
—	—	1,424	+ 0,8
20 p. 100	1,412	1,455	+ 3 %
—	—	1,473	+ 4
—	—	1,455	+ 3,1
—	—	1,49	+ 5,5
30 p. 100	1,412	1,473	+ 4 %
—	—	1,481	+ 4,80
—	—	1,464	+ 3,6
—	—	1,473	+ 4

A partir d'une concentration en acide sulfurique de 20 % il est difficile d'obtenir un dosage rigoureux. L'erreur provient surtout de la difficulté d'apprécier le virage ; l'empois d'amidon conservant à la fin une teinte rose, le terme du virage est peu net. Le dosage à l'iodure de potassium doit se faire en milieu faiblement acide pour opérer dans de bonnes conditions. Pour faire un dosage de chrome dans un milieu fortement sulfurique, il suffira de diluer au moyen d'eau distillée, mais le dosage ayant lieu sur un grand volume, la sensibilité s'en trouve diminuée.

Nous avons abandonné ce procédé, en ce qui nous concerne, pour deux raisons : 1^o parce que la décoloration de l'empois d'amidon est difficile à saisir en liqueur très acide par suite du passage du bleu au rose avant la décoloration ; 2^o et surtout parce que les résidus de destruction sont riches en sels ferriques ; il en résulterait une libération d'iode due à l'action des sels ferriques sur l'iodure de potassium. L'élimination du Fer est délicate et il est beaucoup plus simple d'utiliser la réaction au sel ferreux et au permanganate de potassium.

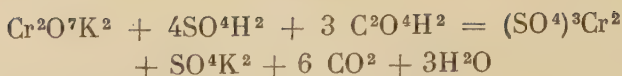
Toutefois, en solution pure, le chrome amené sous la forme d'acide chromique par un des nombreux modes d'oxydation, en milieu alcalin ou acide, peut être dosé par ce procédé avec une erreur inférieure au centième de milligramme pour des prises d'essai de 0 mg. 2 à 0 mg. 3.

L'emploi de la réaction sel ferreux-permanganate pour doser le chrome hexavalent permet d'éviter les erreurs par excès obtenues dans le procédé à l'iode, lors de la présence de sels ferriques dans le milieu.

Essai de microdosage du chrome par l'acide oxalique.

Nous avons essayé de doser le chrome hexavalent en le traitant par un excès d'acide oxalique en milieu acide et en titrant cet excès par le permanganate.

L'action oxydante du bichromate de potassium en milieu sulfurique sur l'acide oxalique paraît à peu près nulle à froid ; à chaud cette action est plus rapide. L'équation adoptée couramment est la suivante :



donc $1 \text{ cm}^3 \text{C}^2\text{O}^4\text{H}^2 \text{ N} = 4 \text{ mg. } 903 \text{ de } \text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$

ou $\text{d}^0 = 1 \text{ mg. } 733 \text{ de } \text{Cr}$

Nous avons fait des essais en opérant à l'ébullition et en augmentant l'acidité du milieu de façon progressive.

Pour une acidité sulfurique de 1 % en volume, en employant un léger excès d'acide oxalique ($2 \text{ cm}^3 \text{C}^2\text{O}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$) et avec une prise d'essai de 4 mg. de bichromate de potassium, l'oxydation de l'acide oxalique est à peu près nulle après 30 minutes d'ébullition.

Le titrage de l'acide oxalique est effectué au permanganate.

Pendant le chauffage, la concentration de 1 % en acide a été maintenue par addition d'eau chaude.

Si, un grand excès d'acide oxalique est utilisé ($5 \text{ cm}^3 \text{C}^2\text{O}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{10}$) après 30 minutes de chauffage, l'acidité étant toujours de 1 %, la moitié du bichromate environ a été réduite.

Par conséquent, l'action de masse de l'acide oxalique est évidente, celle du temps s'y ajoutant également.

Pour une concentration de 10 % en acide sulfurique, et un faible excès d'acide oxalique ($2 \text{ cm}^3 \text{C}^2\text{O}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$), la réduction du bichromate après 1/2 heure de chauffage à l'ébullition, a été plus forte que dans le cas précédent où l'acidité était de 1 %. Par addition d'un grand excès d'acide oxalique ($5 \text{ cm}^3 \text{C}^2\text{O}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{10}$) et ébullition de 30 minutes, la réduction du bichromate est beaucoup plus poussée. Il reste environ 0 mg. 6 de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ non réduit.

Ces expériences montrent que l'augmentation de l'acidité entraîne une augmentation du rendement de l'oxydation.

Mais il ne peut être question dans les limites d'acidité précédentes (1- à 10 %) d'augmenter le temps de chauffage. Le dosage serait trop long et ne présenterait plus d'intérêt du fait de l'existence de réactions immédiates permettant de mesurer le pouvoir oxydant du Cr^{vi} (le sel ferreux p. ex.). Il ne faut pas songer à employer un grand excès d'acide oxalique, l'usage de solutions $\frac{\text{N}}{10}$ rendant un microdosage impossible.

Il restait donc à chercher si l'emploi de milieux plus acides, per-

mettait une oxydation rapide et totale de l'acide oxalique par le bichromate.

Pour une teneur en acide sulfurique de 20 % et un excès de 2 cm³ d'acide oxalique $\frac{N}{100}$, après 30 minutes d'ébullition, 2 mg. de Cr²O⁷K² sur 4 sont réduits. Un excès de 5 cm³ C²O⁴H² $\frac{N}{10}$ et un nouveau chauffage de 30 minutes, amènent la réduction presque totale puisque le dosage colorimétrique à la diphenylcarbazide, dont on trouvera l'exposé par la suite, n'a permis de retrouver que 6 γ de Cr.

Si la teneur en acide sulfurique est de 30 % avec, cette fois, un excès de 12 cm³ C²O⁴H² $\frac{N}{100}$, après 1/2 heure d'ébullition, la réduction du bichromate est totale ; la prise d'essai était de 4 mg. de Cr²O⁷K².

Pour une concentration de 40 % de SO⁴H² et un excès de 12 cm³ C²O⁴H² $\frac{N}{100}$ la réduction de 4 mg. de Cr²O⁷K² est totale après 20 minutes d'ébullition.

Si le bichromate est réduit totalement, le dosage de l'excès d'acide oxalique par le permanganate ne donne pas des chiffres en accord avec les quantités de Cr^{VI} mises en œuvre.

C'est ainsi que pour 3 mg. de bichromate, nous avons retrouvé :

1 mg. 31

2 mg. 25

2 mg. 03

Ceci peut sembler étonnant au premier abord, mais provient de ce que le bichromate, indépendamment de l'action de l'acide oxalique, est réduit à chaud en solution sulfurique concentrée en donnant un mélange complexe de sulfate de chrome, sulfate de potassium et alun de chrome, comme l'a montré JACQUELAIN [40].

Par conséquent, dans ces conditions, une partie du bichromate agit pour oxyder l'acide oxalique, une autre se réduit spontanément.

Un dosage rigoureux devenait donc impossible. Aussi avons-nous abandonné ce procédé pour employer celui au sel ferreux et permanganate.

II. — MICRODOSAGE VOLUMÉTRIQUE DU CHROME HEXAVALENT PAR LE SEL DE MÖHR.

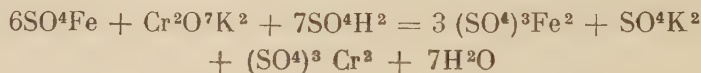
De nombreux auteurs ont utilisé l'action des chromates et bichromates sur le sel ferreux pour doser le chrome dans les aciers chromés. EPPLEY et VOSBURGH en 1922 [22] ont montré que le titrage du sulfate ferreux est influencé par l'acidité, le volume de la solution et la concentration en bichromate.

WILLARD et YOUNG en 1928 [88] utilisent également cette réaction mais en présence de diphénylbenzidine comme indicateur.

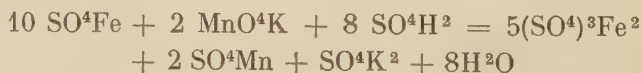
KNOP en 1929 [51] utilise l'érioglaucine A ou alphasurine pour rendre plus net le terme de la réaction sel ferreux-permanganate.

En 1930, KOLTHOFF et SANDELL préconisent l'emploi de l'acide arsénieux au lieu du sel ferreux [53]. SPITALSKY en 1911 [79] avait déjà montré que dans cette méthode la dilution et l'acidité étaient sans effet. Il fut le premier à utiliser l'acide arsénieux.

Une molécule de bichromate de potassium oxyde en solution sulfurique six molécules de sel ferreux pour l'amener à l'état ferrique.



Pour faire le dosage, l'excès de sel ferreux est titré par le permanganate de potassium selon l'équation.



$$1\text{ cm}^3\text{MnO}^4\text{K} \frac{\text{N}}{100} = 0\text{ mg. } 4906\text{ en Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2 \\ = 0\text{ mg. } 173\text{ en Cr}$$

Nous préférons, étant donné l'altérabilité des solutions de sel de Möhr, opérer comme il suit, plutôt que d'employer des solutions de sel de Möhr et de permanganate de potassium qui se correspondent.

Un volume donné de la solution de sel de Möhr est titré par le permanganate de potassium en solution sulfurique. Soit N le nombre de centimètres cubes de MnO^4K titré utilisé et N' le nombre de cm^3 de solution de permanganate employé pour titrer l'excès de sel ferreux n'ayant pas été oxydé par CrO^4H^2 ; $\text{N}-\text{N}'$ est l'équi-

valent en chrome du permanganate de potassium employé pour le titrage.

$$(N-N') \times 0 \text{ mg. } 4906.$$

$(N-N') \times 0 \text{ mg. } 173$ donnent les quantités de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^4$ et de chrome dans la prise d'essai, si la solution de permanganate utilisée est $\frac{N}{100}$.

L'oxydation du sel ferreux par le bichromate est immédiate.

1^o Sensibilité du dosage.

Voici des résultats obtenus par ce procédé pour des quantités de chrome variant de 0 mg. 353 à 1 mg. 059.

TABLEAU N^o IV.

Sensibilité du dosage au sel ferreux.

Chrome en mg.		Erreur %
Quantité théorique	Quantité trouvée	
1,059	1,057	— 0,1 %
—	1,057	— 0,1
0,882	0,877	— 0,5 %
—	0,872	— 1,1
—	0,877	— 0,5
0,353	0,348	— 1,4 %
—	0,352	— 0,2
—	0,354	+ 0,2
—	0,352	— 0,2
—	0,354	+ 0,2
—	0,354	+ 0,2
—	0,354	+ 0,2
—	0,356	+ 0,8

Ce procédé permet donc de déterminer des quantités de chrome de l'ordre de trois dixièmes de milligramme avec une erreur inférieure au centième de milligramme.

2^o Influence de la concentration en acide sulfurique.

De fortes concentrations en acide sulfurique ne provoquent pas de grosses erreurs dans ce dosage ainsi que le montre l'examen du tableau suivant :

TABLEAU N° V.

Influence sur le dosage au sel ferreux de la concentration en acide sulfurique.

Acidité sulfurique	Cr théorique en mg.	Cr trouvé en mg.	Erreur %
7 %	0,353	0,356	+ 0,8 %
—	—	0,352	— 0,2
—	—	0,354	+ 0,2
25 %	0,353	0,352	— 0,2 %
—	—	0,346	— 1,9
—	—	0,352	— 0,2
34 %	0,353	0,356	+ 0,8 %
—	—	0,367	+ 4
—	—	0,356	+ 0,8
—	—	0,361	+ 2,2
65 %	0,529	0,493	— 6,8 %
—	—	0,503	— 4,9
—	—	0,503	— 4,9

Le dosage de 1 mg. de bichromate, c'est-à-dire de 0 mg. 353 de chrome, s'effectue donc avec des erreurs ne dépassant pas sensiblement 1 % pour une concentration de 25 % en acide sulfurique. Cette acidité ne doit pas être dépassée pour rester dans les conditions optima.

Nous avons cherché, d'autre part, l'influence du temps sur la réaction, en effectuant les dosages après des temps de contact variant de quelques secondes à une heure. Voici les résultats obtenus.

3° Influence du temps sur le procédé au sel ferreux.

TABLEAU N° VI.

Action du temps sur le dosage au sel ferreux.

Temps de contact	Cr théorique en mg.	Cr trouvé en mē.	Mn ⁴ OK utilisé
Titration immédiat	0,353	0,350	5 cm ³ 47
Après 1 minute	—	0,348	5 cm ³ 45
Après 2 minutes	—	0,348	5 cm ³ 45
Après 5 minutes	—	0,348	5 cm ³ 45
Après 60 minutes	—	0,348	5 cm ³ 45

La réaction du bichromate en liqueur sulfurique diluée sur le sel de Möhr peut donc être considérée comme immédiate et totale.

Nous préférons ce procédé de dosage à celui à l'iodure de potassium, d'une part à cause de la netteté du virage, un excès de permanganate donnant une teinte rose, d'autre part en raison de la possibilité d'effectuer ce dosage en milieu fortement acide sans pour cela en diminuer l'exactitude.

Ces méthodes volumétriques de microdosage du chrome hexavalent permettent de doser des quantités de quelques dixièmes de milligramme de chrome avec une erreur inférieure au $\frac{1}{100}$ demilligramme.

Toutefois, cette sensibilité ne nous a pas paru suffisante dans tous les cas pour une étude toxicologique sérieuse. Aussi, avons-nous cherché une méthode de recherche et de dosage plus sensible. Nous avons utilisé une méthode colorimétrique fondée sur la réaction donnée par le chrome hexavalent avec la diphénylcarbazine en solution alcoolique.

Microdosage colorimétrique du chrome hexavalent par la diphénylcarbazine.

Nous avons exposé précédemment, au chapitre « Recherche qualitative du chrome » comment il était possible d'éliminer les perturbations dues aux métaux se combinant à la diphénylcarbazine.

Le dosage colorimétrique pourra être effectué soit au colorimètre de Dubosq, soit par lecture en tube par comparaison avec une gamme de témoins. Le dosage pourrait être effectué également au spectrophotomètre. En effet, les courbes obtenues par action de quantités variables de chrome hexavalent sur la diphénylcarbazine montrent qu'il est possible d'envisager un dosage du chrome par simple lecture à une longueur d'onde donnée de la déviation au spectrophotomètre (c'est-à-dire, de la densité optique).

En se reportant aux courbes faites par étalonnage, il est aisé de déduire la concentration en chrome par cm^3 . Cette méthode présenterait l'avantage d'être rapide, mais l'emploi du spectrophotomètre est peu répandu en raison de son prix élevé, et d'autre part, il faut une concentration relativement forte pour faire une lecture utile au spectrophotomètre (plusieurs γ par cm^3).

En résumé, nous préconisons la recherche et le dosage des traces de chrome hexavalent au moyen de la diphénylcarbazine par colorimétrie, de préférence au dosage spectrophotométrique beaucoup moins sensible. L'examen, au spectrophotomètre, de la coloration servira à confirmer la spécificité de la réaction.

Nous n'insisterons pas sur les techniques colorimétriques elles-mêmes, nous ferons simplement remarquer que, pour les très faibles quantités, de l'ordre du millième de milligramme, et pour les quantités moindres, la lecture en tube par comparaison avec un témoin, donne de beaucoup les meilleurs résultats.

Les méthodes de microdosage du chrome que nous venons d'étudier : méthodes volumétriques (à l'iode-hyposulfite d'une part, au sel ferreux d'autre part) et méthode colorimétrique à la diphénylcarbazine s'adressent uniquement au chrome hexavalent.

Il nous a donc fallu étudier les conditions d'oxydation du chrome trivalent en chrome hexavalent.

Procédés d'oxydation du chrome trivalent en chrome hexavalent.

Nous avons d'abord étudié les conditions d'oxydation de quantités de sels chromiques de l'ordre du milligramme ou de quelques dixièmes de milligramme ; puis, ce problème résolu, nous avons cherché à oxyder quantitativement des quantités de chrome trivalent de l'ordre du millième de milligramme.

Nous avons à peu près laissé de côté les oxydations en milieu alcalin, bien que ce soit le mode le plus fréquemment employé, parce que l'alcalinisation des milieux de destruction très sulfuriques, donnerait de fortes quantités de sulfates, nécessitant l'emploi d'un grand volume d'eau pour les dissoudre, d'où une diminution de la précision du dosage.

Pour obtenir un sel de chrome pour nos essais d'oxydation, nous chauffons la solution de bichromate avec de l'acide sulfurique jusqu'à dégagement de fumées blanches d'acide sulfurique ; ceci pour nous placer dans des conditions analogues à celles de la fin d'une destruction de matières organiques par la méthode nitro-sulfo-perchlorique. Il se forme ainsi du sulfate de chrome vert (JACQUELAIN a exposé ces faits en détail [40]).

Nous avons d'abord étudié l'action oxydante de l'acide perchlorique $d = 1,61$ sur les sels de chrome.

I. — OXYDATION DU CHROME TRIVALENT
EN CHROME HEXAVALENT PAR L'ACIDE PERCHLORIQUE
EN PRÉSENCE D'ACIDE SULFURIQUE.

Ce procédé a été d'abord préconisé par WILLARD et CAKE en 1919 pour oxyder l'oxyde chromique et ses sels. LICHTIN en 1930 [57] préconise l'emploi de l'acide perchlorique pour l'analyse de l'alun de chrome. JAMES [49] en 1930 donne quelques indications sur son emploi pour oxyder le chrome dans les aciers chromés.

WILLARD et GIBSON l'utilisent également dans ce but [89].

L'oxydation des sels chromiques par l'acide perchlorique, en présence d'acide sulfurique, est possible mais ne donne de bons résultats que dans certaines conditions. Nous verrons qu'il faut une proportion élevée d'acide perchlorique, sinon l'acide sulfurique agit sur le chrome hexavalent pour le réduire à l'état trivalent ; partiellement tout au moins.

Nous avons d'abord étudié s'il existe une température optimale d'oxydation.

1° *Influence de la température sur le pouvoir oxydant
de l'acide perchlorique vis-à-vis du chrome trivalent.*

A 100° au bain-marie bouillant, l'action oxydante de l'acide perchlorique est nulle.

L'oxydation du chrome trivalent en chrome hexavalent par l'acide perchlorique du commerce $d = 1,61$ n'apparaît que vers 150 à 155°.

Nous avons opéré de la façon suivante, pour voir l'influence de la température.

5 cm³ de solution de bichromate de potassium à 1 mg. par cm³ sont versés dans une petite fiole conique en pyrex avec 10 cm³ d'acide sulfurique. Le mélange est chauffé jusqu'à fumées blanches d'acide sulfurique. La coloration verte du sulfate de chrome apparaît. 2 cm³ d'acide perchlorique $d = 1,61$ sont ajoutés dans la fiole et le tout est chauffé au bain de sable, pendant 15 minutes, à la tem-

pérature choisie. Le chrome hexavalent est dosé sur une portion par la méthode volumétrique au sel ferreux et permanganate $\frac{N}{200}$ précédemment décrite. Voici les résultats obtenus à diverses températures.

TABLEAU N° VII.

Influence de la température sur le pouvoir oxydant de l'acide perchlorique sur le chrome trivalent.

Température	Cr théorique en mg.	Cr trouvé en mg.	Erreur %
160°	0,353	0,342	— 11,6 %
175°	—	0,343	— 11,3
185°	—	0,317	— 10,1
195°	—	0,315	— 10,7
205°	—	0,316	— 10,4

Dans les conditions d'expérience ci-dessus, le rendement en chrome hexavalent n'est pas sensiblement meilleur lorsque la température s'élève. (Les résultats entre 160 et 205° sont comparables.)

Il y a un équilibre entre le pouvoir oxydant de l'acide perchlorique sur le chrome trivalent d'un côté et, de l'autre, l'action réductrice de l'acide sulfurique sur le chrome hexavalent.

Mais si la quantité d'acide perchlorique employé dans l'oxydation est accrue, le rendement en Cr^{vi} suit une progression correspondante.

2° Influence de la teneur en acide perchlorique sur le rendement en chrome hexavalent.

Nous avons opéré à une température inférieure au point d'ébullition de l'acide perchlorique pour éviter les pertes par distillation et conserver une concentration en ClO^4H sensiblement identique du début à la fin de l'expérience.

En opérant à 220°, deux minutes, avec 35 % d'acide perchlorique alors que dans les expériences précédentes la concentration en ClO^4H ($d = 1,61$) était de 15 %, et en diluant par de l'eau distillée, puis portant à l'ébullition 10 minutes pour chasser le chlore, comme précédemment, on obtient les résultats suivants :

Au lieu de 1 mg. $\text{Cr}^3\text{O}^7\text{K}^2$	0 mg. 972
— 0 mg. 353 de Cr	0 mg. 342

L'action de masse de l'acide perchlorique est donc évidente.

Pour une concentration de 50 % en ClO^4H et un chauffage de 4 minutes à 210° l'oxydation est totale. Voici quelques résultats.

Pour 0 mg. 353	0 mg. 352
Pour —	0 mg. 533
Pour —	0 mg. 351

Nous avons cherché à opérer à une température légèrement plus basse. C'est ainsi qu'à 195° pour une concentration en acide perchlorique de 50 % nous avons obtenu :

0 mg. 351	pour 0 mg. 353 de Cr théorique
0 mg. 351	pour — —
0 mg. 352	pour — —

Par conséquent l'oxydation du chrome trivalent en Cr hexavalent en milieu sulfurique est totale à 195° pour une teneur en acide perchlorique de 50 %.

Voici une série de résultats obtenus à 195° en employant des concentrations variables en acide perchlorique.

TABLEAU N° VIII.

Influence de la teneur en acide perchlorique sur le rendement en chrome oxydé.

Teneur en ClO^4H	Cr théorique en mg.	Cr trouvé en mg.	Erreur %
15 %	0,353	0,312	— 10,1 %
—	—	0,315	— 10,7
28,5 %	0,353	0,341	— 8,3 %
—	—	0,344	— 2,5
37 %	0,353	0,34	— 3,6 %
—	—	0,339	— 3,9
40 %	0,353	0,339	— 3,9 %
—	—	0,341	— 3,3
	0,353	0,352	— 0,2 %
44 %	—	0,350	— 0,8
—	—	0,351	— 0,5
—	—	0,349	— 1,1
50 %	0,353	0,351	— 0,5 %
—	—	0,352	— 0,2
—	—	0,353	— 0

L'oxydation des sels de chrome en présence d'acide sulfurique est totale à 195° en employant un volume d'acide perchlorique ($d = 1,61$) égal au volume d'acide sulfurique présent dans le milieu. Un chauffage de 2 à 4 minutes à cette température est suffisant.

L'oxydation du chrome trivalent par l'acide perchlorique présente un inconvénient.

L'acide du commerce ($d = 1,61$) est impur. Il contient entre autres impuretés du fer, du manganèse, du calcium, du sodium, etc.... et du chrome en assez forte quantité.

L'analyse d'acides perchloriques provenant de diverses maisons françaises et allemandes, nous a toujours permis de trouver du chrome en quantité importante. Même l'acide perchlorique « pur pour analyses » contenait des quantités de chrome allant de 0 mg. 2, à 4 mg. par litre.

Nous opérons de la manière suivante pour rechercher le Cr dans cet acide.

20 cm³ d'acide perchlorique sont portés à l'ébullition 2 minutes. Après refroidissement l'acide est dilué par addition d'eau distillée. Le mélange est chauffé à l'ébullition pour chasser le chlore qui s'est formé par décomposition de l'acide perchlorique. Après refroidissement, le réactif alcoolique à la diphenylcarbazine a permis, en opérant en liqueur sulfurique et phosphorique, de retrouver du chrome.

Voici les résultats obtenus sur divers échantillons :

N° 1	3 mg. de Cr par litre de ClO ⁴ H	
N° 2	0,414	—
N° 3	0,40	—
N° 4	4,84	—

La présence à côté du chrome de Fer et de Manganèse doit être attribuée fort probablement à la préparation de cet acide ou des matières premières en récipients en acier chromé.

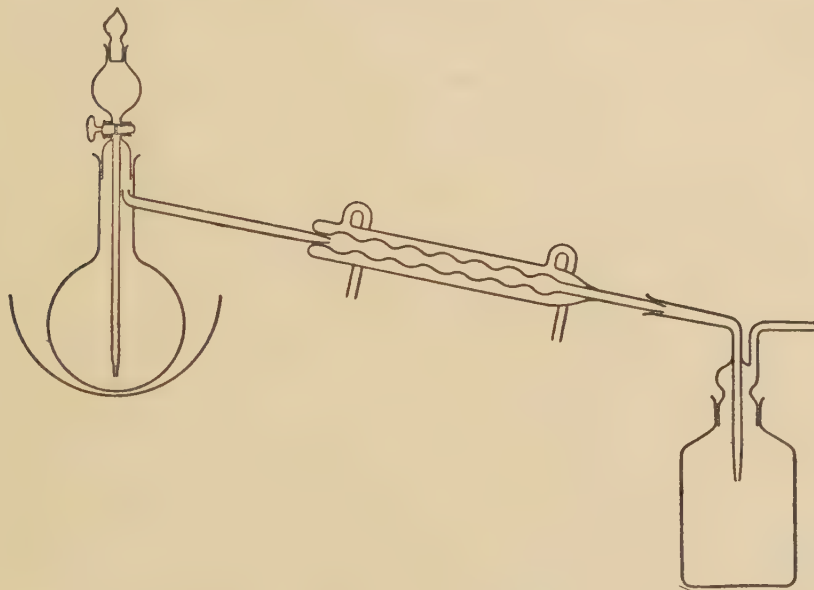
L'emploi d'acide perchlorique comme oxydant du chrome nécessitait évidemment sa purification.

Par simple distillation et en fractionnant la distillation en différentes portions, nous n'avons pas obtenu de bons résultats. Toutes les portions contenaient du chrome et de plus en plus à mesure

que la température d'ébullition s'élevait. Ces différentes portions soumises à une deuxième distillation laissaient encore passer du chrome.

Nous avons alors fait la distillation en présence d'acide sulfurique pur bouilli et exempt de chrome. Nous opérons dans les conditions suivantes :

1.000 g. d'acide perchlorique, de densité 1,61, sont versés dans une cornue en pyrex de 3 litres avec 100 cm³ d'acide sulfurique pur. La cornue est chauffée au bain de sable, les vapeurs sont reçues



Appareil à distiller l'acide perchlorique.

dans un ballon servant de réfrigérant. Les portions de queue sont éliminées. Nous avons obtenu ainsi un acide perchlorique exempt de chrome, mais plus riche en eau que l'acide primitif et d'un emploi moins aisé pour la destruction des matières organiques.

Cette forte teneur en eau est due à ce que le chauffage est long et la température élevée, d'où une décomposition assez intense de l'acide perchlorique.

Nous avons alors effectué des distillations dans le vide de façon à éviter cette décomposition.

L'appareil utilisé se compose d'un ballon en pyrex contenant l'acide perchlorique et l'acide sulfurique. Le col du ballon est fermé par un ajutage pourvu d'un rodage et traversé par un tube

de rentrée d'air plongeant au fond du liquide. Le ballon est chauffé au bain de sable, la partie inférieure du ballon étant seule enfoncée dans le sable. Le ballon est muni d'une tubulure latérale rodée sur un réfrigérant relié lui-même par un rodage à un flacon dans lequel est reçu l'acide perchlorique distillé. Un flacon de sûreté relie le récipient, dans lequel est reçu l'acide distillé, à la trompe à vide de façon à éviter le retour d'eau dans l'acide distillé.

Nous avons distillé avec cet appareil un acide perchlorique contenant 2 mg. 50 de chrome pour 1000 cm³.

Nous avons opéré sur 400 cm³ d'acide perchlorique impur ($d = 1,61$) en présence de 50 cm³ d'acide sulfurique. Le mélange est chauffé au bain de sable, la rentrée d'air étant très faible, de façon à maintenir une faible pression durant toute la distillation.

La recherche du chrome hexavalent, au moyen du réactif à la diphénylcarbazine, n'a pas permis de mettre le métal en évidence dans le distillat.

Nous avons vu précédemment que l'oxydation de faibles quantités de chrome trivalent en milieu sulfurique par l'acide perchlorique $d = 1,60$, employé dans la proportion de 50 %, était quantitative pour 0 mg. 2 à 0 mg. 3 de chrome.

Nous avons fait l'essai d'oxydation de faibles quantités de chrome trivalent, de l'ordre du millième de milligramme, par l'acide perchlorique ; la méthode colorimétrique à la diphénylcarbazine n'a en effet de valeur que s'il est possible d'oxyder quelques γ de chrome quantitativement.

Ces essais ont été effectués également en présence d'acide sulfurique. Le chrome trivalent est obtenu par l'action réductrice de l'acide sulfurique bouillant sur le bichromate ajouté en quantité connue sous forme de solution titrée. Nous avons employé un excès d'acide perchlorique de façon à être dans les conditions optima.

Voici le procédé utilisé : un volume d'acide perchlorique égal à 4 à 5 fois celui de l'acide sulfurique présent, est versé dans une fiole conique en pyrex et le tout est porté à l'ébullition douce pendant une minute. Il se dégage d'abondantes fumées blanches d'acide perchlorique. Après refroidissement la liqueur est diluée par addition d'eau distillée et portée à l'ébullition pour chasser le chlore.

Pour des quantités de 1 à 2 γ employées dans ces essais, nous avons obtenu, après addition de diphénylcarbazine alcoolique, une réaction positive identique à celle donnée par le témoin.

L'emploi de l'acide perchlorique comme oxydant de fortes quantités de chrome est bien connu (il est utilisé en particulier dans l'industrie métallurgique). Ce qui précède montre également que l'acide perchlorique convient bien à l'oxydation de quantités de chrome allant jusqu'au $\frac{1}{1000}$ de milligramme.

Il donne des résultats quantitatifs, si, l'on se place dans certaines conditions de température et de concentration. La caractérisation, du chrome hexavalent dans ce milieu, se fait ensuite aisément en utilisant le réactif à la diphénylcarbazine.

II. — OXYDATION DU CHROME TRIVALENT EN CHROME HEXAVALENT PAR LE PERHYDROL ET LA SOUDE.

Dans certains résidus de destruction contenant peu d'acide sulfurique, l'emploi d'un procédé d'oxydation du chrome en milieu alcalin peut présenter certains avantages.

Les sels de chrome sont oxydés par le perhydrol en liqueur alcalinisée par la soude et sont transformés en chromates. Après acidification par l'acide sulfurique la recherche par la diphénylcarbazine est possible.

Ce procédé d'oxydation, déjà employé pour des quantités relativement importantes de chrome, peut s'appliquer également à des quantités de chrome de l'ordre du $\frac{1}{1000}$ de milligramme, ainsi que nos essais nous l'ont montré.

La solution contenant quelques γ de chrome (sous forme de sel chromique) et alcalinisée à la soude, est oxydée à chaud par quelques gouttes de perhydrol. Après une ébullition prolongée pour décomposer l'excès de perhydrol, la solution est refroidie puis acidifiée par l'acide sulfurique. L'addition de la solution alcoolique de diphénylcarbazine donne une coloration qui, comparée avec le témoin (2 γ de chrome hexavalent), présente la même intensité.

Ce procédé présente un inconvénient : pour chasser l'excès de perhydrol il faut une ébullition très longue. Cette précaution étant prise, l'identification du Cr se fait de façon convenable.

Le procédé au perhydrol en milieu alcalin n'ayant, en ce qui nous concernait, que des applications restreintes, nous avons cherché une méthode susceptible de s'appliquer à tous les cas que nous pourrions

rencontrer dans nos recherches toxicologiques. Nous avons utilisé dans ce but la méthode au persulfate de potassium avec le nitrate d'argent comme catalyseur.

III. — OXYDATION DU CHROME TRIVALENT EN CHROME
HEXAVALENT PAR LE PERSULFATE ET LE NITRATE D'ARGENT
EN MILIEU SULFURIQUE.

Ce procédé, découvert par IBBOTSON et R. HOWDEN depuis longtemps [38] a été utilisé ensuite par KELLEY et CONANT [50] en 1916, puis LUNDELL, HOFFMAN et BRIGHT en 1923 [60] et enfin WILLARD et YOUNG [88] en 1928 pour oxyder le chrome dans les aciers chromés.

Pour que l'oxydation par le persulfate se produise dans de bonnes conditions, la concentration en acide sulfurique ne doit pas dépasser 10 %. Le milieu ne doit évidemment pas contenir d'acide chlorhydrique ni de chlorure, ce qui amènerait la précipitation du catalyseur sous forme de ClAg . Ceci n'est pas à craindre lorsque la méthode de destruction des matières organiques utilisée est la méthode nitro-sulfo-perchlorique. Il suffit de chauffer quelques minutes le résidu de destruction de façon énergique pour ne pas avoir à craindre cet inconvénient.

L'oxydation de quantités de chrome de l'ordre du milligramme est très rapide. Pour décomposer l'excès de persulfate n'ayant pas réagi il suffit d'une ébullition de dix minutes.

Nos essais ont été effectués sur 2 mg. de $\text{Cr}^2\text{O}^3\cdot\text{K}^2$ c'est-à-dire 0 mg. 707 de chrome en dissolution dans 2 cm^3 d'eau. Ces 2 cm^3 sont versés avec 10 cm^3 d'acide sulfurique pur dans une fiole conique en pyrex et le tout est chauffé jusqu'à émission de fumées blanches. La teinte verte du sulfate de chrome apparaît. Après refroidissement, 80 cm^3 d'eau sont versés dans la fiole ainsi que deux gouttes de nitrate d'argent à 1 %. Le mélange est porté à l'ébullition, puis retiré du feu pour ajouter la solution de persulfate (quelques décigrammes dans 20 cm^3 d'eau distillée). L'oxydation se produit après quelques minutes, la solution est portée à l'ébullition pendant 10 minutes pour décomposer l'excès de persulfate. Le titrage est ensuite effectué par le procédé volumétrique au sel ferreux et au permanganate.

Voici quelques résultats obtenus par ce procédé d'oxydation.

TABLEAU N° IX.

Oxydation du chrome par le persulfate et le nitrate d'argent.

Cr théorique en mg	Cr trouvé en mg	Erreur %
0,707	0,72	+ 1,8 %
0,707	0,72	+ 1,8 %
—	0,708	+ 0,1
—	0,719	+ 1,6
—	0,706	— 0,1
—	0,72	+ 1,8
—	0,70	— 1,1
—	0,709	+ 0,2

L'emploi du persulfate comme oxydant a un inconvénient que ne présente pas l'acide perchlorique : S'il y a des sels de manganèse, ceux-ci sont oxydés par le persulfate en permanganate, qu'il faut décomposer pour effectuer le dosage. Dans ce but nous utilisons quelques gouttes d'acide chlorhydrique à l'ébullition. Le chlore formé est chassé par ébullition. La réduction du permanganate par l'acide chlorhydrique est bien complète ainsi que nous l'ont montré des essais témoins.

Une fois l'oxydation terminée, il ne faut pas chercher à concentrer la solution de façon à faire le dosage sur un volume plus faible, sinon il se produirait, en liqueur sulfurique plus concentrée, une réduction partielle du chrome hexavalent.

Nous avons cherché si ce procédé d'oxydation, qui donne d'excellents résultats pour des quantités de chrome allant jusqu'à quelques dixièmes de milligramme, était susceptible de donner des résultats du même ordre pour des quantités de chrome de l'ordre du millième de milligramme.

Nous nous sommes assuré préalablement de la pureté des réactifs employés (acide sulfurique, eau distillée, nitrate d'argent, persulfate de potassium).

Nous avons effectué l'oxydation de 5 γ de chrome sous forme de sulfate chromique par le persulfate de potassium et le nitrate d'argent en liqueur sulfurique (la concentration en acide étant inférieure à 10 %). La décomposition de l'excès de persulfate est effectuée par 10 minutes d'ébullition. Après refroidissement la diphenylcarbazine en solution alcoolique donne une coloration qui,

comparée au colorimètre avec un témoin (5 γ de chrome hexavalent) se révèle identique.

Les quantités de 0 γ 5 et 1 γ de chrome sous forme de sulfate chromique, oxydées dans les mêmes conditions, ont donné des colorations comparables à celles des témoins correspondants.

L'examen des colorations doit se faire rapidement dans le cas de la recherche de quantités de chrome inférieures au $\frac{1}{1000}$ de milligramme contenu dans un volume d'eau assez important, car dans ces conditions la teinte rose violet s'atténue assez vite.

Ce procédé d'oxydation au persulfate et au nitrate d'argent comme les deux autres étudiés précédemment (acide perchlorique et perhydrol en milieu alcalin) permet de transformer quantitativement le chrome trivalent en chrome hexavalent même pour des quantités ne dépassant pas le millième de milligramme.

* * *

En résumé, voici les techniques que nous utilisons pour rechercher et doser le chrome.

1° Oxydation du sel chromique par l'acide perchlorique à la concentration minima de 50 % dans le cas du milieu sulfurique avec chauffage 2 minutes à 195°, puis dilution à l'eau distillée et ébullition pour chasser le chlore. Pour les faibles quantités de chrome (quelques γ) employer 4 volumes d'acide perchlorique pour 1 d'acide sulfurique présent dans le milieu.

2° Oxydation au persulfate en présence de nitrate d'argent.

La solution sulfurique de sel de chrome est diluée pour avoir une teneur en acide sulfurique inférieure à 10 % en volume. 1 à 2 gouttes de nitrate d'argent à 1 % suffisent à catalyser l'oxydation. La solution est portée à l'ébullition puis retirée du feu pour ajouter la solution de persulfate de potassium. L'oxydation se produit et l'excès d'oxydant est décomposé par 10 minutes d'ébullition. La solution est refroidie.

Suivant la teneur en chrome, on utilisera la méthode volumétrique ou la méthode colorimétrique.

- a) Jusqu'à 3 à 4 dixièmes de milligramme méthode volumétrique.
- b) En dessous de 0 mg. 3 méthode à la diphénylcarbazine.

La teneur en Cr, et par suite la technique à utiliser, peut s'apprécier avec un peu d'habitude par la teinte plus ou moins jaune ou orangée de la solution.

DOSAGE VOLUMÉTRIQUE.

Un excès de solution du sel de MOHR est ajouté à la solution contenant le chrome hexavalent (c'est-à-dire une quantité suffisante pour la décoloration de la solution). L'excès de sel ferreux est titré au MnO^4K $\frac{N}{200}$ jusqu'à teinte rose faible. Soit N' le nombre de cm^3 $\frac{N}{200}$. Un titrage comparatif de la même quantité de sel ferreux dans les mêmes conditions de dilution et d'acidité est effectué par le MnO^4K $\frac{N}{200}$. Soit N' le nombre de cm^3 $\frac{N}{200}$ utilisé.

La quantité de chrome sera obtenue en utilisant la formule

$$(N-N') \times 0 \text{ mg. } 0865$$

et $(N-N') \times 0,2453$ donnera le chrome exprimé en $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$

DOSAGE COLORIMÉTRIQUE.

La solution contenant le chrome hexavalent est additionnée de quelques cm^3 d'acide phosphorique (pour éviter le trouble dû au fer) et d'acide sulfurique (la réaction est plus sensible dans ces conditions) puis de 1 cm^3 de solution alcoolique à 2 ‰ de diphénylcarbazine. En présence de Cr hexavalent, il se développe une coloration rose violet, qui est comparée au colorimètre avec un témoin, ou encore, pour les très faibles quantités (1 à 2 γ et en dessous), avec une gamme de témoins en tubes, l'examen se faisant dans l'axe du tube placé sur un papier blanc.

Les deux méthodes que nous avons exposées sont toutes deux rapides, précises et spécifiques du chrome hexavalent, lorsqu'on se place dans les conditions déterminées précédemment.

Le procédé volumétrique (sel ferreux, permanganate) permet de doser des quantités de chrome allant jusqu'à 2 à $\frac{3}{10}$ de milligramme avec une précision satisfaisante ; pour des quantités de chrome inférieures, l'emploi de la méthode colorimétrique donne d'excellents résultats jusqu'à des quantités de $\frac{1}{1000}$ de milli-

gramme et même moins. Par essai à la touche 0 mg. 000005 donnent encore une réaction positive.

Dans l'une et l'autre méthode de dosage, l'acide perchlorique, le persulfate et le nitrate d'argent en milieu acide, ou le perhydrol en milieu alcalin, peuvent être employés indifféremment avec de bons résultats pour amener le chrome trivalent à l'état de chrome hexavalent, forme sous laquelle il entre en réaction.

DESTRUCTION DES MATIÈRES ORGANIQUES

La caractérisation et la localisation d'un métal, dans les tissus d'un animal, nécessitent en général, au préalable, la minéralisation du milieu, c'est-à-dire la destruction de la matière organique.

Cette opération est délicate à conduire et les diverses méthodes classiques ne donnent pas entière satisfaction ; certains constituants des substances biologiques (les graisses par exemple) présentent une grande résistance à l'oxydation ; d'autre part, les réactions utilisées sont parfois violentes et risquent de provoquer l'entraînement de quantités appréciables du métal recherché ; il peut y avoir également fixation du métal par les particules charbonneuses et graisseuses non attaquées.

Le but des méthodes de destruction étant de simplifier au maximum le milieu, il semble évident que la méthode donnant une destruction complète, dans le minimum de temps avec le minimum de pertes, doive être préférée aux autres méthodes. Pour des raisons de cet ordre, nous avons adopté les méthodes nitro-sulfo-perchlorique et nitro-perchlorique de E. KAHANE, systématiquement étudiées au laboratoire de Toxicologie de la Faculté de Pharmacie de Paris.

Par ces procédés, en effet, la destruction est totale, rapide, et permet, dans le cas particulier du chrome, le dosage direct sur le résidu de destruction. Outre le gain de temps, les risques de pertes par transvasement, filtration, lavage, et surtout par isolement préliminaire, sont évités.

Nous ne passerons pas en revue les diverses méthodes de destruction des matières organiques, mais nous ne ferons que montrer rapidement les points faibles de chacune, afin de justifier notre choix.

La méthode de destruction la plus anciennement employée semble être l'incinération.

Cette technique présente de nombreux inconvénients :

1° Destruction difficilement complète des tissus animaux.

2° Opération longue, en particulier pour l'incinération des gros organes. D'autre part, dans le cas de tissus frais, l'opération doit être menée au début très lentement. La masse se boursoufle considérablement et il y a souvent des pertes par projection.

3° A la température élevée du four à moufle, de nombreux dérivés de divers éléments se volatilisent en forte quantité et parfois même totalement (As, Hg etc.).

4° Certains sels fixes peuvent être réduits au cours de la destruction avec mise en liberté du métal qui devient susceptible de se volatiliser (Zn, Cu, etc.)

5° Difficulté par ce procédé de destruction, d'une étude critique de l'entraînement du métal, semblant donc devoir faire rejeter l'emploi des méthodes de micro-analyse après application de cette technique.

6° Les destructions en série nécessitent un appareillage encombrant et coûteux, ce qui est souvent un gros obstacle pour les chercheurs de laboratoire.

7° Formation par calcination de dérivés difficilement solubilisables (Cr en particulier).

Ces diverses raisons, de valeur inégale, nous ont fait rejeter l'incinération comme méthode de destruction des matières organiques dans le cas spécial du chrome.

Les destructions par voie humide sont plus fréquemment employées, elles peuvent être rattachées à deux groupes :

1° Méthodes utilisant les acides nitrique et sulfurique.

2° Méthodes utilisant le chlore naissant.

Dans le premier groupe, l'acide nitrique joue le rôle d'oxydant essentiel, soit seul, soit en présence d'un catalyseur ; il brûle partiellement la matière organique à une température peu élevée ; cette combustion est complétée par l'addition d'acide sulfurique qui est, à une température plus élevée, un oxydant énergique.

Des diverses méthodes se rattachant au premier groupe, certaines peuvent avoir sur d'autres un avantage dans des cas particuliers, mais la destruction est en général incomplète, surtout dans le cas d'organes riches en lipoides.

D'autre part, l'attaque est longue, et elle est difficile à appliquer sur de fortes quantités de matières organiques.

Nous avons cherché à utiliser la méthode de destruction de MEILLÈRE pour la recherche ultérieure du chrome, mais nous l'avons abandonnée pour la méthode perchlorique de KAHANE [46].

Le second groupe de procédés, dans lequel est utilisé le chlore naissant, présente un énorme avantage sur les méthodes à l'acide nitrique, c'est la grande rapidité de la destruction et la possibilité d'opérer en une seule fois la destruction de grosses quantités de substances organiques.

Malgré leur plus grande rapidité, les techniques au chlore naissant sont moins utilisées que celles à l'acide nitrique, ceci, semble-t-il, en raison de l'appareillage un peu plus compliqué qu'elles nécessitent.

Les procédés au chlore naissant ne donnent pas une destruction totale, celle-ci est même moins poussée, semble-t-il, que par l'emploi de l'acide nitrique.

Les techniques au chlore et à l'acide nitrique ne comportent pas généralement d'appareillage permettant l'étude de l'entraînement du métal par les vapeurs et sont, par suite, sujettes à caution en ce qui concerne les recherches de micro-analyse.

De ces divers groupes de procédés de destruction de la matière organique aucun ne donne entière satisfaction. Il semble toutefois que l'emploi de l'acide nitrique et de l'acide sulfurique, dans certaines conditions, permette d'arriver à une destruction rapide et sensiblement totale, mais sans jamais atteindre les résultats obtenus avec l'acide perchlorique.

Nous n'avons pas l'intention de décrire une nouvelle technique de destruction, utilisant l'acide nitrique et l'acide sulfurique, mais nous voulons simplement insister sur les conditions nécessaires, pour obtenir le maximum de rapidité et d'efficacité.

Nous avons pu réaliser, par l'emploi exclusif de l'acide nitrique et de l'acide sulfurique, la destruction en 1 h. 15 de 200 g. d'intestin de chien, riche en graisses. La technique classique de destruction de Denigés aurait demandé 3 à 4 heures.

La substance est introduite dans un ballon en pyrex à long col avec 90 cm³ d'acide nitrique et 70 cm³ d'acide sulfurique. L'addition de billes de verre permet une ébullition régulière. L'attaque nitrique s'amorce sans chauffage. La paroi latérale du ballon est

chauffée violemment au bunsen, au voisinage de la surface du liquide, de façon à faire tomber la mousse, puis, au bout de quelques minutes, la mousse étant détruite, le chauffage du ballon est repris de la façon habituelle par la partie inférieure. L'eau des organes s'élimine peu à peu ; la masse se concentre ; au bout d'un certain temps, l'acide nitrique étant éliminé totalement, le liquide se colore en brun ; le chauffage est continué de façon à avoir un mélange noirâtre, de consistance sirupeuse. A partir de ce moment l'acide nitrique est versé par fraction de 5 à 10 cm³ tout en chauffant ; il se produit une réaction très violente, tumultueuse, d'où la nécessité d'employer un ballon de grande capacité et à long col pour éviter les pertes. Ces additions d'acide nitrique sont répétées jusqu'à destruction complète.

La concentration de la matière organique en milieu sulfurique permet d'obtenir une température plus élevée favorisant l'attaque par l'acide nitrique ajouté par petites portions ; dans ces conditions, celui-ci réagit presque immédiatement.

A priori, ce procédé ne paraît pas d'une application générale, le milieu fortement réducteur, du fait de la présence de matières organiques, étant susceptible de provoquer la réduction de certains sels fixes, avec production de substances volatiles.

D'autre part, dans cette technique, le dégagement gazeux est d'une telle violence qu'il paraît difficile de pouvoir étudier d'une façon sérieuse, l'entraînement de tel ou tel métal par les vapeurs, la condensation des vapeurs étant peu aisée à réaliser.

Nous avons simplement tenu à montrer que la destruction des matières organiques pouvait être rapide et sensiblement totale, par l'emploi combiné de l'acide nitrique et de l'acide sulfurique, dans des conditions voisines de celles qui sont recommandées par MEILLÈRE, mais en opérant sur une quantité plus grande de substance.

Nous tenons à signaler, toutefois, que BRETEAU a mis au point une technique de destruction légèrement différente des techniques classiques à l'acide nitrique, qui permet la destruction complète de la matière organique.

En résumé, les méthodes classiques de destruction présentent deux points faibles :

- 1^o Destruction incomplète ;
- 2^o Lenteur de la destruction.

A ces deux inconvénients, nous pouvons ajouter celui qui résulte du fait que l'étude critique du sort des divers métaux au cours de la destruction, n'a généralement pas été faite d'une façon systématique.

* * *

Récemment de nombreuses méthodes de destruction ont été publiées, cherchant à remédier aux lacunes des techniques classiques. L'une d'entre elles, la méthode perchlorique de КАНАН, permet la destruction intégrale des matières organiques dans un temps beaucoup plus court et d'une façon plus commode que la plupart des autres. Cette méthode n'utilise que des réactifs volatils et par suite aisément purifiables ; il n'est pas fait usage de catalyseurs minéraux, qui peuvent troubler les recherches analytiques ultérieures. Cette méthode, déjà appliquée à la résolution de nombreux problèmes analytiques, est utilisée de façon courante pour la minéralisation de quantités importantes de substances biologiques.

L'acide perchlorique provoque la destruction intégrale de la matière organique et évite, par suite, les opérations de séparation, de filtration ou de lavage nécessaires dans la plupart des méthodes qui aboutissent seulement à une destruction partielle.

Le liquide résiduel est incolore et permet le dosage direct dans de nombreux cas ; exemples : le soufre [45] qui est à l'état d'acide sulfurique, le phosphore à l'état d'acide phosphorique et l'arsenic à l'état d'acide arsénique [44]. A ces exemples déjà connus nous avons ajouté le chrome et le manganèse [47].

L'acide perchlorique est considéré généralement comme un produit dangereux. En réalité l'acide perchlorique anhydre seul est explosif spontanément ; mais ce n'est pas sous cette forme que se manifestent ses propriétés oxydantes ou déshydratantes.

L'acide perchlorique ordinaire $d = 1,61$ à 65 % de ClO_4H est au contraire très stable. Ce composé se forme avec réaction exothermique. Son mélange avec l'eau se fait avec dégagement de chaleur, mais ne nécessite pas de précautions spéciales. A froid il n'agit pas en oxydant. En règle générale, son pouvoir oxydant n'apparaît qu'à température élevée, au voisinage de son point d'ébullition (203°). Dans ces conditions l'acide perchlorique hydraté est un oxydant très énergique vis-à-vis de substances organiques diverses.

MEARS et HUSSEY [63] furent parmi les premiers à utiliser cette

propriété pour accélérer la destruction des matières organiques dans le dosage de l'azote par la méthode de KJELDAHL. Ils ajoutaient 2 cm³ d'acide perchlorique aux 25 cm³ d'acide sulfurique utilisés.

D'autres auteurs ont utilisé ensuite l'acide perchlorique pour doser l'azote : YOE [92], ROSE [73] ; LEMATTE, BOINOT et KAHANE, etc... Dans ces techniques l'acide perchlorique intervient comme oxydant accessoire pour accélérer l'opération.

L'acide perchlorique, associé à l'acide nitrique, a été utilisé par KAHANE pour oxyder quantitativement le soufre dans le caoutchouc [45] puis dans les substances biologiques [48] et l'y doser.

KAHANE a étudié systématiquement l'emploi de l'acide perchlorique et a proposé deux séries de techniques de destruction.

1^o *La méthode nitro-perchlorique* ; celle-ci ne doit être utilisée que sur de petites quantités de substances organiques (quelques grammes).

2^o *La méthode nitro-sulfo-perchlorique* : cette méthode permet d'opérer en toute sécurité la destruction de plusieurs centaines de grammes de tissus organiques à condition de suivre scrupuleusement la technique décrite par l'auteur.

1^o MÉTHODE NITRO-PERCHLORIQUE DE DESTRUCTION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE.

Dans la méthode nitro-perchlorique l'addition successive ou simultanée des acides nitrique et perchlorique ne semble pas avoir de grosse importance. L'attaque nitrique et l'attaque perchlorique se font toujours séparément, la phase nitrique précédant la phase perchlorique. De plus, un excès de l'un ou l'autre réactif ne présente pas d'inconvénients (au contraire une teneur trop faible en acide perchlorique risque souvent d'amener des projections ou même des explosions).

Ceci s'explique par le fait que l'excès d'acide perchlorique dilue le milieu organique et tend à le rendre plus homogène, on évite ainsi les points de surchauffe avec calcination qui peuvent être le point de départ de réactions vives. Il est facile de calmer une réaction qui s'emballe en versant avec une pissette un jet d'eau froide sur le ballon pyrex où elle s'effectue.

Nous avons utilisé cette méthode pour la destruction des petits

organes et du tissu osseux. Elle nous a donné entière satisfaction sans jamais le moindre incident. A condition d'opérer en présence d'un excès d'oxydant et sur une prise d'essai ne dépassant pas quelques grammes, cette technique peut être utilisée sans danger. La destruction a l'avantage d'être totale et rapide (une dizaine de minutes et même beaucoup moins sur les petites prises d'essai).

Voici la technique qui pourra être utilisée. Ce mode opératoire de la méthode nitro-perchlorique est extrait de la Thèse de V. STEFANESCO [80]. On trouvera des renseignements complémentaires dans une publication de KAHANE de 1932 [46] :

« Introduire 4 g. de substance dans une fiole conique en pyrex
« contenant 10 cm³ d'acide nitrique ($d = 1,39$).

« L'attaque s'amorce généralement à froid, mais on peut chauffer
« sans crainte, en veillant à ce que la mousse, qui se forme avec
« certaines substances, ne soit pas trop abondante. Une fois la
« mousse tombée, le chauffage peut être accéléré sans inconvénient.
« Dans cette première phase de l'oxydation il s'échappe d'abon-
« dantes vapeurs nitreuses. L'eau de constitution de l'organe et une
« partie de l'excès d'acide nitrique distillent, cependant que la
« solubilisation de la matière organique s'effectue.

« On poursuit l'ébullition de façon à compléter l'attaque nitrique
« et à concentrer le milieu. Lorsque le volume est d'environ 3 ou
« 4 cm³, le chauffage est interrompu et on introduit 15 cm³ d'un
« mélange nitro-perchlorique constitué par deux volumes d'acide
« perchlorique ($d = 1,61$) pour un volume d'acide nitrique ($d = 1,39$
« cette addition provoque une vive effervescence avec intense éli-
« mination de vapeurs nitreuses. Le chauffage est alors repris et
« la liqueur se concentre : de jaune orangé qu'elle était, elle devient
« progressivement brune, puis noire. La température s'élève pro-
« gressivement aussi et lorsqu'elle atteint 170 ou 180°, l'attaque
« perchlorique se déclanche.

« Le début de cette attaque se manifeste par une effervescence
« localisée à la surface de séparation de la liqueur perchlorique
« et de la couche de matières grasses.

« L'attaque est en général vive et très rapide. La réaction se
« poursuit spontanément en s'accéléralant et en devenant très vive,
« si bien qu'il est préférable de cesser le chauffage dès le début
« de cette deuxième phase de l'opération, quand la formation des
« bulles devient plus active.

« Lorsque l'attaque spontanée est calmée, c'est-à-dire au bout
« d'une minute ou deux, le chauffage est repris et peut être pour-
« suivi jusqu'à la fin de l'opération sans inconvénients et sans
« qu'il soit besoin de précautions spéciales.

« La liqueur se décolore progressivement jusqu'à atteindre une
« teinte jaune citron, qui resterait stationnaire ; en ajoutant quel-
« ques gouttes d'acide nitrique après refroidissement partiel, on
« obtient une décoloration totale, qui marque le terme de l'opé-
« ration.

« La relative volatilité de l'acide perchlorique ($E = 203^{\circ}$) per-
« met de concentrer aisément le liquide avant d'effectuer certains
« dosages où un gros excès d'acide serait gênant ; cette circonstance
« est assez précieuse pour qu'on préfère le plus souvent la méthode
« nitro-perchlorique à la méthode nitro-sulfo-perchlorique ».

La destruction de grosses quantités de matières organiques
par la méthode nitro-perchlorique ne peut s'effectuer sans de gros
risques ; dans ce cas il convient d'employer la méthode nitro-sulfo-
perchlorique.

2^o MÉTHODE NITRO-SULFO-PERCHLORIQUE DE DESTRUCTION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE.

Dans cette technique, après une attaque nitrique, puis une con-
centration sulfurique, la destruction est terminée au moyen d'acide
perchlorique ajouté goutte à goutte de façon qu'il puisse réagir
immédiatement ; ainsi, il n'y a pas de danger d'accumulation et par
suite pas de déflagration possible.

Il ne semble pas que ce soit l'attaque sulfurique, elle-même, en
tant qu'oxydation, qui facilite la destruction et puisse expliquer la
supériorité de cette technique sur la méthode nitro-perchlorique,
ainsi que STEFANESCO le laisse supposer [80].

Après l'attaque nitrique, le chauffage de l'acide sulfurique avec
les matières organiques, élimine l'eau de constitution des tissus,
la température s'élève progressivement et il arrive un moment où
celle-ci convient à l'oxydation de la substance par l'acide perchlo-
rique. Ainsi lorsque nous effectuons une concentration très poussée
par chauffage des matières organiques avec l'acide sulfurique, de
façon à obtenir une masse noirâtre de consistance sirupeuse,
l'attaque perchlorique se produit beaucoup plus aisément et par
suite peut être menée beaucoup plus rapidement. Dans ce cas, la

température est sensiblement plus élevée que lorsque la concentration sulfurique n'a pas été effectuée ou a été peu intense.

Dans ces conditions, où l'accumulation de l'acide perchlorique ne peut se produire, puisqu'il réagit aussitôt, l'attaque s'effectue régulièrement, à la chute de chaque goutte. Elle est rendue visible par le dégagement de vapeurs blanches et par les nombreuses bulles apparaissant au point de chute de la goutte d'acide perchlorique au contact de la matière organique.

Ainsi, l'acide sulfurique intervient surtout, à notre avis, pour élever la température, plutôt que comme agent oxydant réel (son rôle, à cet égard, n'est que secondaire).

Il faut éviter de verser directement l'acide sulfurique concentré sur l'organe à détruire, car celui-ci subit une sorte de sclérisation superficielle qui s'oppose à la désintégration rapide du tissu par l'acide nitrique. L'acide nitrique, par contre, liquéfie la substance en quelques minutes à chaud.

L'organe est généralement découpé en morceaux ou broyé, mais l'attaque s'effectue presque aussi vite sur l'organe entier, la liquéfaction étant toujours rapide lorsque le chauffage peut être mené assez fort. Le seul obstacle au chauffage est la mousse abondante qui se produit avec de nombreux organes (foie, cerveau, poumons, etc...) et en particulier avec les tissus riches en substances lipoides. Il suffit de chauffer violemment au bec Bunsen le ballon pyrex juste à la surface du liquide, sur toute la périphérie, pour que la mousse soit détruite immédiatement.

La destruction s'effectue de préférence dans des ballons pyrex à fond rond. Le volume final étant toujours très faible par rapport au volume initial, il est facile d'éviter avec un ballon à fond rond les points de surchauffe qui se produiraient nécessairement par l'emploi de récipients à fond plat où le liquide serait dispersé sur une grande surface.

Mode opératoire.

200 gr. de tissus divisés sont introduits dans un ballon en verre pyrex de 1500 cm³ à fond rond avec 80 cm³ d'acide nitrique ($d = 1,39$), puis 60 à 70 cm³ d'acide sulfurique ($d = 1,81$); quelques billes de verre assureront l'ébullition régulière. L'attaque débute sans chauffage par l'apparition de vapeurs nitreuses; ceci est

dû à la chaleur dégagée au moment de l'addition de l'acide sulfurique.

Une mousse abondante se produit. Celle-ci est détruite ainsi que nous l'indiquons précédemment en chauffant toute la périphérie du ballon à la hauteur de la surface du liquide. Une fois cette mousse disparue, le chauffage peut être mené très rapidement sans inconvénient.

La substance est désagrégée en quelques instants. Les graisses ne sont pas attaquées dans ces conditions par l'acide nitrique et forment une couche huileuse à la surface du liquide.

Après la phase nitrique a lieu la phase de concentration. Lorsque tout l'acide nitrique a réagi, ce qui se reconnaît à l'absence de vapeurs nitreuses et à la coloration foncée que prend le liquide, le chauffage est continué de façon à poursuivre la concentration sulfurique.

Dans la plupart des cas, il faut éviter de se trouver en milieu réducteur, aussi ajoute-t-on ordinairement de l'acide nitrique goutte à goutte pendant la phase de concentration.

Dans le cas qui nous intéresse, la recherche du chrome, nous verrons, par la suite, l'intérêt qu'il y a, au contraire, à se trouver en milieu réducteur de façon à éviter les pertes de métal. D'autre part, dans ce cas, la destruction est facilitée.

Nous effectuons donc la concentration sulfurique sans ajouter d'acide nitrique, en restant en milieu réducteur. Il convient de remarquer en passant, que les termes « milieu oxydant » et « milieu réducteur » n'ont pas de valeur absolue.

Au cours de la concentration, le liquide se colore d'abord en brun, puis en noir, cependant que la masse s'épaissit. Le chauffage est poursuivi jusqu'à l'obtention d'une liqueur sirupeuse noir foncé, adhérant légèrement aux parois lorsque le ballon est agité. La température du milieu va en croissant au cours de cette concentration.

Une fois la consistance voulue atteinte, l'attaque perchlorique est entreprise. Pour cela, nous employons un mélange composé de $\frac{1}{3}$ d'acide nitrique ($d = 1,39$) et de $\frac{2}{3}$ d'acide perchlorique ($d = 1,6$).

Le mélange est introduit goutte à goutte, à raison de 2 à 3 cm³ à la minute. L'acide perchlorique réagit à mesure qu'il est ajouté

et ne peut ainsi s'accumuler. Il se dégage alors d'abondantes fumées blanches, et la masse présente une multitude de petites bulles, en particulier autour du point de chute de la goutte d'acide perchlorique.

Lorsque l'acide perchlorique ne réagit pas immédiatement, il est inutile de continuer son addition ; il suffit de poursuivre la concentration sulfurique jusqu'à obtention d'une température convenable pour l'oxydation de la matière organique par l'acide perchlorique.

Nous mettons en garde contre la diminution du volume d'acide sulfurique employé, que beaucoup de chimistes sont tentés de faire. STEFANESCO [80] dans sa thèse, dit d'employer 20 cm³ d'acide sulfurique pour 200 g. de substances, ceci ne doit se faire que lorsque la technique est bien en main et encore faut-il prendre des précautions.

En effet, à mesure que la teneur en acide sulfurique est diminuée, la destruction devient de plus en plus délicate. Ceci est évident, puisque l'on tend à se rapprocher de la technique nitro-perchlorique, dont l'application est difficile à de fortes quantités de substance.

L'attaque perchlorique se faisant avec dégagement de chaleur, il suffit d'un chauffage modéré pour entretenir la réaction.

La fin de l'attaque se manifeste par une décoloration progressive de la masse. A ce moment, le chauffage peut être poussé sans risques, pour activer la réaction. Presque toujours le résidu de destruction est coloré en jaune pâle (l'addition répétée d'acide perchlorique n'a aucun effet). Il suffit alors d'ajouter, après refroidissement partiel, quelques gouttes d'acide nitrique ($d = 1,39$) puis de chauffer quelques instants, pour avoir un liquide incolore.

Il reste dans le ballon un résidu de 50 à 60 cm³ de liqueur sulfurique. La quantité d'acide nitrique utilisée est variable selon les expériences, mais voisine en général de 100 cm³. L'emploi d'un volume d'acide sulfurique inférieur à celui cité plus haut, nécessite une attaque nitrique beaucoup plus longue, pour pouvoir effectuer facilement l'attaque perchlorique.

La quantité d'acide perchlorique ($d = 1,61$) utilisée est de l'ordre de 30 cm³ (pour 200 g. de substances organiques). L'attaque dure une heure environ, la phase nitrique et la concentration sulfurique occupant plus de la moitié de ce temps.

Lorsque dans l'attaque perchlorique, un excès d'acide perchlorique a été ajouté accidentellement, la masse peut charbonner légèrement et la réaction être irrégulière, il suffit alors d'ajouter, après arrêt du chauffage, quelques cm^3 d'acide nitrique ($d = 1,39$) pour rendre la masse homogène et permettre de reprendre l'attaque perchlorique en toute sécurité.

La destruction de la matière organique semble totale, puisqu'il ne subsiste qu'un résidu minéral ne charbonnant pas par calcination, lorsque l'acide sulfurique est évaporé.

La destruction nitro-sulfo-perchlorique peut se faire dans un ballon pyrex à fond rond, à long col de préférence, pour éviter les pertes par projection.

E. KAHANE a fait construire un appareil permettant de condenser les vapeurs et d'étudier ainsi les divers phénomènes susceptibles de se produire au cours de l'attaque des matières organiques [48].

L'appareil est en pyrex ; les différentes parties sont assemblées par rodage. Le ballon dans lequel la substance à détruire sera introduite est en pyrex et a une contenance de 1.500 cm^3 ; le col est large et surmonté d'une partie rodée pourvue d'une ampoule à robinet à tige effilée permettant l'addition goutte à goutte du mélange oxydant. Sur le côté se trouve une tubulure portant à son extrémité un rodage qui la relie à un réfrigérant à boules de Barbot, dont le tube intérieur est prolongé par une allonge coudée.

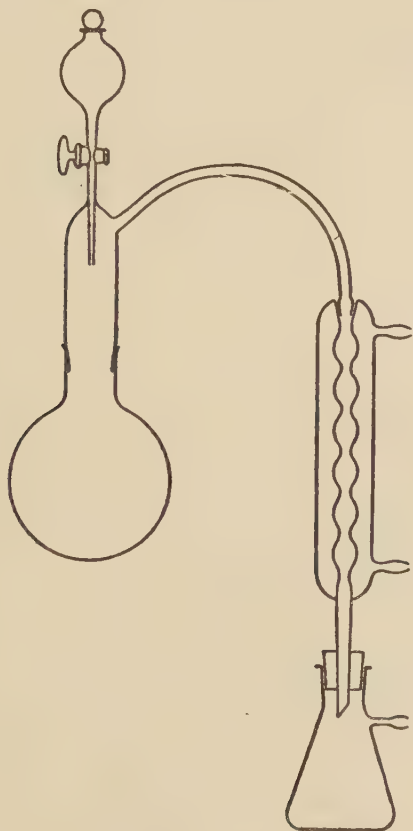
Un thermomètre à chemise peut être introduit dans le ballon et permet de suivre la marche de l'opération.

Les appareils utilisés actuellement au Laboratoire de Toxicologie de la Faculté de Pharmacie de Paris, ont été légèrement modifiés pour diminuer l'encombrement. Dans ce but, le réfrigérant a été disposé verticalement. D'autre part, la condensation des vapeurs est rendue plus efficace par une double circulation d'eau froide dans le réfrigérant.

Cet appareil peut rendre service dans l'emploi d'autres méthodes de destruction de la matière organique que la méthode nitro-sulfo-perchlorique et en particulier dans l'application des méthodes sulfo-nitriques d'Armand Gautier, de Meillère ou de Denigés.

Cet appareil nous a permis d'étudier l'entraînement du chrome au cours de la destruction des matières organiques, d'en expliquer les raisons et de récupérer les traces de métal passées dans le distillat.

Cet appareil est d'un emploi recommandable, mais il n'est pas indispensable lorsque la méthode est mise au point. Un simple ballon pyrex à fond rond ou une fiole Kjeldahl en pyrex suffisent. Dans ce cas, l'attaque devra se faire, soit sous une hotte à bon tirage, à cause du dégagement abondant de vapeurs acides, soit



Appareil de E. KAHANE
pour l'étude de la destruction des matières organiques.

encore en utilisant un dispositif analogue à l'absorbeur de Guillaumin. Le col du ballon est placé dans la boule de l'absorbeur et celui-ci est relié par sa tubulure latérale à une trompe à eau. Par aspiration, les vapeurs produites au cours des attaques nitrique et perchlorique sont entraînées, dans une solution alcaline, ou elles sont neutralisées ou sinon, entraînées dans la canalisation d'eau.

Avec cet appareil, l'addition du mélange nitro-perchlorique se fera, soit au moyen d'une ampoule à brome, soit à la pipette.

Le résidu de destruction incolore présente souvent un précipité blanc formé de petites aiguilles. Ce précipité est constitué par du perchlorate d'ammonium, peu soluble en milieu acide, mais qui se dissout par simple dilution au moyen d'eau distillée.

Le résidu obtenu par destruction des poumons présente souvent un précipité ténu constitué par de la silice. Celui-ci est en général si faible qu'il n'offre pas d'inconvénient.

Pour la destruction des os ou des cartilages, l'emploi de la technique nitro-perchlorique évite la précipitation de sulfate de calcium qui se produit par l'emploi de la méthode nitro-sulfo-perchlorique.

* * *

En résumé, les techniques nitro-perchlorique et nitro-sulfo-perchlorique de E. KAHANE permettent une destruction totale avec obtention d'un résidu incolore. Comme on le verra plus loin, il est possible de doser l'élément cherché, directement dans la liqueur minéralisée et de simplifier considérablement les opérations par suite de la suppression des séparations, filtrations ou lavages. Ceci présente également l'avantage de diminuer les causes d'erreurs.

Il n'est fait usage que de réactifs volatils, par conséquent faciles à purifier et, comme on les utilise en faible quantité, l'influence des impuretés se trouve réduite au minimum.

Cette méthode n'utilise aucun catalyseur minéral qui pourrait gêner les recherches analytiques ultérieures.

Ces diverses raisons nous ont fait préférer les techniques perchloriques pour la destruction des matières organiques, dans nos recherches expérimentales sur la toxicologie de divers dérivés du chrome.

ÉTUDE DE L'ENTRAÎNEMENT DU CHROME AU COURS DE LA DESTRUCTION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE

R. FABRE et E. KAHANE [25] ont attiré l'attention sur le volume énorme de vapeurs émises au cours des destructions par voie humide et sur l'importance que peut prendre la faible volatilité de certains sels métalliques.

Bien que le chrome soit un métal relativement très stable, il nous a paru nécessaire de vérifier s'il y avait ou non entraînement du chrome au cours de la destruction de la matière organique par la méthode nitro-sulfo-perchlorique, technique que nous avons adoptée pour des raisons exposées précédemment.

L'emploi de la réaction à la diphénylcarbazine permettant de retrouver des quantités de chrome inférieures au $\frac{1}{1000}$ de milligramme, était tout indiqué pour cette étude.

Pour effectuer la destruction, nous avons utilisé l'appareil de Kahane muni de son réfrigérant à double circulation d'eau pour obtenir la condensation des vapeurs émises au cours des attaques nitrique et perchlorique.

Le problème que nous nous sommes posé est le suivant :

1° Le chrome est-il entraîné au cours de la destruction de la matière organique ?

2° S'il se produit un entraînement du métal, comment récupérer les traces de chrome passées dans le distillat ?

3° Et enfin quelles sont les raisons de cet entraînement ou s'il n'y a pas de pertes de chrome, quelles sont les raisons de cette stabilité remarquable ?

Les premiers dosages de chrome que nous avons effectués sur un résidu de destruction de matières organiques auxquelles une quantité connue de chrome avait été ajoutée nous avaient montré

que, s'il y avait entraînement du métal dans les attaques oxydantes, cet entraînement était très faible. Les chiffres de chrome retrouvés concordaient en effet avec les quantités de chrome mises en œuvre, aux erreurs de dosage près.

Ce faible entraînement n'a rien de surprenant ; le chrome est, en effet, un métal très stable, dont les sels, le chlorure de chromyle mis à part, sont particulièrement fixes.

Toutefois, il n'était pas invraisemblable que le chrome puisse donner, au cours des réactions oxydantes des attaques nitrique et perchlorique, des composés particulièrement volatils. Il se pouvait également qu'un entraînement vésiculaire provoquât des erreurs non négligeables, surtout si la quantité de chrome était faible.

Application des dosages volumétriques et colorimétriques à l'étude du distillat.

La recherche du chrome s'effectue sur le liquide condensé dans le réfrigérant de l'appareil à destruction décrit précédemment.

Ce distillat est un milieu complexe contenant entre autres : de l'eau, des acides (nitrique, chlorhydrique, perchlorique), des acides gras volatils, solubles et insolubles et un corps particulier à odeur irritante se présentant au fond du vase récepteur sous forme de petites gouttelettes huileuses. Le liquide contient également des vapeurs nitreuses et une foule de composés non définis.

Il n'est pas étonnant que la réaction à la diphénylcarbazine, ne soit pas possible dans ce milieu complexe.

Nous n'avons pas songé à précipiter le métal de ce liquide pour l'isoler et effectuer ensuite, après son oxydation, sa recherche colorimétrique. Des essais préliminaires nous avaient montré, en effet, que les quantités de métal passant dans le distillat, étaient très faibles et il devenait alors illusoire de vouloir précipiter quelques millièmes de milligramme de chrome contenus dans un volume de liquide atteignant fréquemment 200 à 300 cm³ ; c'était aller au devant d'erreurs grossières et de difficultés considérables.

Il était plus logique de chercher à effectuer la recherche directe du chrome dans le distillat ayant subi un traitement préalable destiné à éliminer le ou les produits s'opposant à la réaction du chrome hexavalent avec la diphénylcarbazine.

Pour nos essais témoins nous nous sommes servi de distillat obtenu par attaque de foie de bœuf par la méthode nitro-sulfo-perchlorique. Le liquide condensé est jaunâtre, d'odeur désagréable, et est surmonté d'une couche d'acides gras insolubles qui sont séparés par filtration.

L'addition, à ce distillat acide, de chrome hexavalent, puis de réactif alcoolique de diphénylcarbazide, ne donne pas de coloration.

Ceci pouvait être attribué à plusieurs causes : réduction du chrome hexavalent en chrome trivalent par diverses substances rendant impossible, par ce fait, la combinaison avec la diphénylcarbazide ; action inhibitrice d'une substance inconnue vis-à-vis du réactif soit parce qu'elle se combine à la diphénylcarbazide et empêche la combinaison ultérieure avec le chrome hexavalent, soit parce qu'elle détruit le réactif.

Il se peut d'ailleurs que ces différentes actions se superposent.

Sans vouloir préjuger des raisons qui s'opposent à la réaction du chrome avec la diphénylcarbazide dans le distillat, nous avons pensé que cette substance inhibitrice, volatile puisqu'elle est passée au cours de la distillation, pourrait être éliminée par une deuxième distillation et que, dans les mêmes conditions, le chrome ne serait pas entraînable.

Nous nous sommes appuyé sur l'hypothèse qu'une deuxième distillation n'entraînerait qu'une fraction du chrome passé dans le premier distillat, celle-ci pouvant être si faible qu'il est possible de la négliger. Au contraire, un composé totalement volatil dans une première opération le sera également dans une deuxième de même ordre et sera par suite éliminé totalement.

Les quantités de chrome les plus fortes dont l'entraînement a été observé, ont en effet toujours pu être considérées comme des infiniment petits vis-à-vis de la quantité restée dans la fiole laboratoire. Par conséquent, les quantités perdues au cours d'une redistillation du distillat, ne sauraient être que des infiniment petits du second ordre ; et à ce titre, peuvent être tenues comme négligeables.

Ceci s'est trouvé confirmé par l'expérience, à cette différence près que le pourcentage de pertes en chrome est d'autant plus élevé que la quantité de métal mise en œuvre est plus faible.

Pour éliminer du distillat cette substance inhibitrice volatile nous avons étudié plusieurs procédés :

Evaporation du distillat au bain-marie	1
Evaporation du distillat à feu nu	2
Evaporation du distillat dans le vide	3

L'évaporation du distillat au bain-marie présentait à première vue l'inconvénient d'être de longue durée. De plus, nos essais nous l'ont montré, elle ne donne pas de résultats satisfaisants.

En effet, dans une première opération, nous avons évaporé 50 cm³ de distillat au bain-marie bouillant. Au bout d'un certain temps, le volume ne variant plus, le résidu est repris par 30 cm³ d'eau distillée. L'addition en milieu sulfurique de 10 γ de chrome hexavalent, puis de réactif alcoolique de diphénylcarbazine, donne une réaction positive, certes, mais très mauvaise (beaucoup moins intense que le témoin).

L'évaporation dans les mêmes conditions de 50 cm³ de distillat auquel avaient été ajoutés au préalable 2 γ 5 de chrome hexavalent, laisse, après reprise par l'eau additionnée d'acide sulfurique, une liqueur ne donnant pas de réaction colorée avec la diphénylcarbazine. L'addition ultérieure de bichromate donne une teinte orangée.

L'évaporation, au bain-marie bouillant, du distillat contenant du chrome à l'état hexavalent, et en présence d'acide sulfurique, ne donne pas la réaction du chrome. Il y a eu réduction du chrome hexavalent en chrome trivalent, car l'addition à la solution d'une trace de bichromate produit une réaction positive assez nette.

L'addition d'acide sulfurique au distillat permet donc d'obtenir de meilleurs résultats.

Nous avons alors effectué une série d'évaporations au bain-marie bouillant en présence d'acide sulfurique et avec des quantités de chrome variables de 1 γ à 10 γ. Dans aucun cas, la diphénylcarbazine n'a montré de réaction positive, mais l'addition de chrome hexavalent au résidu d'évaporation a donné, avec la diphénylcarbazine, une réaction positive, mais pas entièrement satisfaisante.

Par conséquent, l'évaporation du distillat au bain-marie bouillant ne permet pas la réaction à la diphénylcarbazine, d'une part parce que le chrome hexavalent est réduit en chrome trivalent, et d'autre part, parce que la substance inhibitrice n'est pas totalement éliminée ; l'addition au distillat d'acide sulfurique et son évaporation au bain-marie bouillant aboutit à de meilleurs résultats, mais sans donner toutefois entière satisfaction.

Nous avons effectué ensuite le chauffage du distillat en présence d'acide sulfurique.

20 cm³ de distillat, auxquels sont ajoutés 2 cm³ d'acide sulfurique, sont versés dans une fiole conique en pyrex et portés à l'ébullition. La solution est concentrée jusqu'à l'apparition de fumées blanches d'acide sulfurique. Dans ces conditions, la liqueur se colore en brun. L'addition de quelques gouttes d'acide perchlorique provoque la décoloration.

Le résidu est repris par de l'eau distillée et traité par le persulfate de potassium en présence de nitrate d'argent comme au cours d'une oxydation ordinaire d'un sel chromique. L'excès de persulfate est décomposé par 10 minutes d'ébullition. Après refroidissement, l'addition de diphénylcarbazine en solution alcoolique ne donne pas de réaction colorée ce qui est normal, le milieu ne contenant pas de chrome. Mais quelques γ de chrome hexavalent ajoutés à la solution donnent une réaction très nette, analogue à celle du témoin.

Le distillat ainsi traité par évaporation à feu nu en présence d'acide sulfurique, permet donc, après oxydation au persulfate, d'effectuer la réaction du chrome hexavalent avec la diphénylcarbazine.

Un essai effectué avec 0 γ 5 de chrome, 20 cm³ de distillat et 2 cm³ d'acide sulfurique, donne, après oxydation au persulfate et addition de diphénylcarbazine, une coloration rose identique à celle du témoin.

0 γ 5 de chrome recherchés dans 100 cm³ de distillat ont donné, après le même traitement, une coloration comparable à celle du témoin.

Ces essais prouvent, d'une part, l'oxydation quantitative, dans le milieu obtenu, du chrome trivalent en chrome hexavalent, par le persulfate de potassium et le nitrate d'argent pour des quantités de l'ordre du $\frac{1}{1000}$ de milligramme et même moins ; et d'autre part, la possibilité de la recherche du chrome dans un distillat traité dans ces conditions.

Nous avons abandonné l'étude de l'évaporation du distillat dans le vide à froid ; cette opération était très longue (10 à 15 jours environ) et laissait un résidu très épais contenant des acides gras en quantités importantes, d'où la nécessité d'un chauffage à feu nu

pour effectuer leur destruction au moyen de l'acide perchlorique.

En résumé, voici la technique que nous utilisons pour rechercher des quantités de chrome de l'ordre du millième de milligramme dans un distillat :

100 à 200 cm³ de distillat sont évaporés à feu nu, dans une fiole conique en pyrex, en présence de 5 cm³ d'acide sulfurique, jusqu'à émission de fumées blanches d'acide sulfurique. La décoloration de la liqueur est obtenue par l'addition de quelques gouttes d'acide perchlorique. L'oxydation du chrome trivalent en chrome hexavalent est effectuée soit à l'aide de l'acide perchlorique en utilisant un volume d'acide perchlorique double du volume d'acide sulfurique présent et en portant à une douce ébullition 1 à 2 minutes, soit en utilisant le persulfate de potassium en présence de nitrate d'argent comme catalyseur.

Dans ce cas, nous opérons comme il suit : le résidu sulfurique est repris par l'eau distillée de façon à avoir une concentration en acide sulfurique inférieure à 10 % en volume.

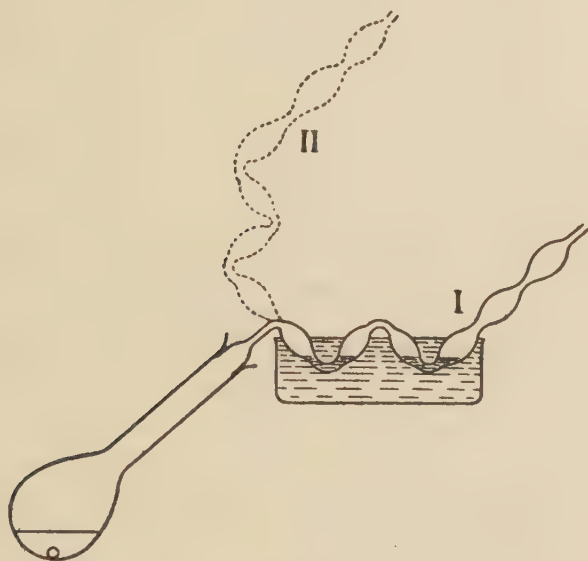
La solution est portée à l'ébullition puis additionnée de 2 à 3 gouttes d'une solution de nitrate d'argent à 1 %, puis, après avoir cessé le chauffage, de 0 g. 50 environ de persulfate de potassium dissous dans dix centimètres cubes d'eau distillée. L'oxydation s'effectue rapidement et l'excès de persulfate est décomposé par dix minutes d'ébullition. Après refroidissement, 3 à 4 gouttes de solution à 2 % de diphénylcarbazide dans l'alcool à 95° sont ajoutées. La teinte caractéristique due au chrome se développe en quelques instants.

Cette technique permet de retrouver sûrement des quantités de quelques millièmes de milligramme de chrome dans 100 à 200 cm³ de distillat. Dans tous ces essais, nous avons évidemment utilisé des réactifs reconnus exempts de chrome.

Étude de l'entraînement du chrome au cours de la destruction par la technique perchlorique.

Dans certains cas, il peut y avoir intérêt à employer la méthode nitro-perchlorique pour la destruction de la matière organique. Nous avons cherché s'il y avait, par ce procédé, un entraînement de chrome dans les vapeurs.

Cette technique s'adressant à de faibles quantités de matières organiques nous avons opéré sur 2 g. de muscle de chien, en utilisant un appareil décrit par Ernest et Marcelle KAHANE [48].



Appareil de E. KAHANE et M. KAHANE.

Cet appareil se compose d'un ballon Kjeldahl de 300 cm³ pourvu, à l'extrémité du col, d'un rodage auquel s'adapte un tube à olives en forme de W. La condensation des vapeurs émises au cours de la destruction, est effectuée grâce au refroidissement du tube à boules qui est plongé dans un mélange d'eau et de glace.

La recherche du chrome dans le liquide condensé est effectuée comme dans les expériences précédentes en évaporant le distillat en présence de quelques cm³ d'acide sulfurique pur. Après refroidissement et dilution par addition d'eau distillée de façon à avoir une concentration en acide inférieure à 10 % en volume, l'oxydation est effectuée au moyen du persulfate de potassium et du nitrate d'argent comme catalyseur. L'excès de persulfate est décomposé par dix minutes d'ébullition et la recherche du chrome est faite au moyen de la solution alcoolique de diphénylcarbazine.

Voici quelques essais effectués en utilisant la méthode nitro-perchlorique de destruction.

Une destruction de 2 g. de muscle de chien en présence de 1 mg.

de chrome, ajouté sous forme de bichromate de potassium, a été effectuée avec 20 cm³ de mélange nitro-perchlorique :

(2 vol. ClO⁴H, $d = 1,61$ pour 1 vol. NO³H, $d = 1,39$) en utilisant l'appareil décrit précédemment.

Le distillat est évaporé à feu nu avec 3 cm³ d'acide sulfurique.

Après dilution et oxydation au persulfate, la recherche du chrome au moyen de la diphénylcarbazine a été négative.

Une autre destruction effectuée dans les mêmes conditions, mais en présence cette fois de 35 mg. de chrome, a permis de retrouver 0 γ 3 de chrome dans les vapeurs condensées. La perte de chrome a donc été inférieure à $\frac{1}{1000.000}$ ce qui est tout à fait négligeable.

Une destruction de 0 g. 50 de cuir chromé contenant 9 mg. 50 de chrome a été effectuée avec 20 cm³ de mélange nitro-perchlorique. La recherche dans le distillat, au moyen de la diphénylcarbazine, n'a pas permis de retrouver du chrome.

Ces différentes destructions ont été effectuées en 15 à 20 minutes, c'est-à-dire qu'elles ont été conduites de façon normale.

L'emploi de la méthode nitro-perchlorique pour la recherche et le dosage du chrome est donc à recommander puisqu'elle ne donne pas lieu à un entraînement du métal. Malheureusement, cette technique, s'adressant à de petites quantités de matières organiques, ne peut être d'un emploi général. (Nous l'avons utilisée avec de bons résultats pour la destruction des cuirs chromés.)

Il est fort probable d'ailleurs que le non entraînement du chrome est dû dans ce cas à la rapidité de l'opération, à la faible quantité de matière organique et à la mise en œuvre de quantités minimales de réactifs.

Les résultats précédents sont résumés dans le tableau que voici :

TABLEAU N° X.

Entraînement du chrome au cours de la destruction nitro-perchlorique.

Cr ajouté en mg.	Substance organique en g.	Mélange nitro-perchlorique	Cr entraîné dans le distillat en γ
1	2	20 cm ³	0
9,50	2	20 cm ³	0
35	2	20 cm ³	0,3

L'entraînement n'ayant pas lieu pour 1 mg. de chrome ne se produira pas à plus forte raison si la quantité de métal mise en œuvre au cours de la destruction est inférieure au milligramme.

Nous ferons remarquer, en passant, que le chrome se trouve à l'état trivalent à la fin de la destruction nitro-perchlorique ; ceci peut sembler étonnant au premier abord.

La destruction nitro-sulfo-perchlorique se faisant sur de grandes quantités de matière organique, il n'était pas invraisemblable de supposer que dans ces conditions il puisse y avoir une perte sensible de chrome.

Etude de l'entraînement du chrome au cours de la destruction par la technique nitro-sulfo-perchlorique.

Nous avons effectué nos premières recherches sur l'entraînement du chrome au cours de la destruction, en utilisant, comme moyen de dosage, l'action oxydante du chrome hexavalent en milieu acide sur les sels ferreux. La méthode volumétrique ne nous a pas permis de mettre en évidence du chrome dans le distillat.

Nous avons détruit 200 g. de sang de bœuf contenant 17 mg. 5 de chrome par la technique nitro-sulfo-perchlorique. Le distillat est évaporé dans le vide sur de l'acide sulfurique et de la potasse en plaques. Le résidu contenant un excès d'acides gras et différentes matières organiques, est traité à chaud par un peu d'acide perchlorique. Le liquide se décolore. Après refroidissement et dilution, il est oxydé au persulfate en présence de nitrate d'argent. Il se produit une coloration rose (ceci prouve que le manganèse des tissus, bien que peu abondant, est entraîné fortement dans la destruction). Le permanganate est décomposé à l'ébullition par l'addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique pur.

Après refroidissement, l'addition de sel de Möhr avec titrage au permanganate de potassium $\frac{N}{200}$ n'a pas permis de mettre de chrome hexavalent en évidence.

L'entraînement du chrome s'il existait, était donc inférieur à 1 %, puisqu'une quantité de chrome de 0 mg. 17 aurait été retrouvée par le dosage volumétrique ; la prise d'essai était de 17 mg.50 de chrome.

La recherche par la diphénylcarbazine donne, par contre, une réaction positive du chrome avec le distillat traité comme nous l'avons dit.

Nous avons cherché si l'entraînement était plus fort dans la phase nitrique que dans l'attaque perchlorique.

Afin d'établir si l'entraînement avait lieu sous forme vésiculaire, nous avons étudié en collaboration avec E. KHANE [47], le manganèse en même temps que le chrome. Nous ne traitons ici que de ce qui concerne le chrome.

220 g. de foie de bœuf, auxquels ont été ajoutés 0 mg. 353 de chrome et de manganèse, sont détruits en présence de 70 cm³ d'acide sulfurique par 125 cm³ d'acide nitrique, puis ensuite par 75 cm³ d'acide nitrique ajoutés par portions. Cette phase nitrique a duré 28 minutes. Le liquide de condensation de l'attaque nitrique est mis de côté et ensuite l'attaque perchlorique est effectuée. Elle a duré 35 minutes et a nécessité 50 cm³ de mélange nitro-perchlorique soit 34 cm³ de ClO⁴H ($d = 1,60$).

Cette destruction de 200 g. de foie a duré 63 minutes, c'est-à-dire qu'elle a été conduite assez rapidement.

La recherche du chrome dans la portion nitrique a été effectuée selon la technique décrite précédemment : Evaporation à feu nu en présence d'acide sulfurique, attaque perchlorique pour provoquer la décoloration, puis oxydation au persulfate et nitrate d'argent. Le permanganate de potassium est décomposé à chaud par quelques gouttes d'acide chlorhydrique ; la recherche du chrome par la diphénylcarbazine a permis de retrouver 28 γ de chrome dans le distillat nitrique.

Le distillat perchlorique soumis au même traitement a permis de retrouver 13 γ 3 de chrome.

Il passe donc plus de chrome dans la phase nitrique que dans la phase perchlorique. L'entraînement global du chrome a été de 41 γ 3 soit une perte de 0,011 %, environ 1 pour 10.000.

Cette perte est faible et peut être négligée dans la plupart des cas.

Un autre essai est effectué sur 183 g. de foie de bœuf, avec 1 g. de chrome (ajouté à l'état de bichromate de potassium). Nous avons utilisé 70 cm³ d'acide sulfurique et 200 cm³ d'acide nitrique. L'attaque nitrique a duré 43 minutes. Le distillat nitrique est mis de côté puis ensuite l'attaque perchlorique est effectuée avec 50 cm³

de mélange nitro-perchlorique en 40 minutes. La destruction a duré 1 heure 23 minutes.

La recherche a permis de retrouver 8 γ 4 de chrome dans le distillat nitrique, et 9 γ 6 dans le distillat perchlorique. L'entraînement global a été de 18 γ soit une perte de 1 pour 50.000 environ.

Cette opération est donc légèrement en contradiction avec la précédente puisque, dans celle-ci, le chrome a été entraîné en moins grande quantité dans le distillat ; la teneur en chrome mis en œuvre dans le ballon était pourtant plus importante que dans le cas précédent.

Toutefois, nous ferons remarquer que, dans cette deuxième expérience, l'attaque a été menée beaucoup plus lentement, ce qui peut expliquer la diminution de la teneur du distillat en chrome.

Nous avons cherché à récupérer le métal passé au cours de la destruction en ajoutant le distillat nitrique et perchlorique au résidu sulfurique du ballon et en le redistillant. Il est encore passé dans le liquide distillé 6 γ de chrome au lieu de 18 γ passés dans le premier distillat.

Cette technique ne donne pas des résultats excellents ; nous indiquons par la suite le procédé utilisé pour récupérer d'une façon satisfaisante les traces de métal entraînées dans le distillat.

Nous nous sommes demandé si le pourcentage du chrome entraîné dans la destruction des matières organiques ne pouvait pas croître lorsque la quantité de chrome mise en œuvre dans le ballon à destruction, allait en diminuant.

Nous avons effectué la destruction de 100 g. de foie de bœuf avec un milligramme de chrome. La quantité retrouvée dans le distillat a été de 2 γ 4 de chrome, soit un entraînement de 0,2 %.

Une destruction de 50 g. de foie en présence de 0 mg. 1 de chrome a permis de retrouver dans le distillat 1 γ 4 de métal, soit un entraînement de 1,40 %.

Dans certaines conditions l'entraînement peut devenir assez important pour exiger la récupération des traces de métal passé dans la distillation.

Nous avons détruit 100 g. de poumon de cheval, en présence de 350 mg. de chrome en utilisant 80 cm³ d'acide nitrique ($d = 1,39$) et 50 cm³ d'acide sulfurique. La quantité de mélange perchlorique utilisé a été de 22 cm³. La destruction a duré une heure.

Une moitié du distillat a servi à rechercher le chrome ; la quantité

retrouvée, exprimée pour le distillat total, a été de 16 γ de chrome. L'autre moitié du distillat a été remise dans le ballon contenant le résidu sulfurique de destruction et redistillée. Dans le deuxième distillat il y avait encore 4 γ de chrome.

La récupération du chrome n'est donc pas parfaite. Pour étudier cette récupération nous sommes parti des mêmes quantités de métal que dans l'expérience précédente et du même volume de distillat.

115 cm³ de distillat auxquels nous avons ajouté 350 cm³ de chrome sous forme de bichromate de potassium et 50 cm³ d'acide sulfurique, sont versés dans le ballon de l'appareil à destruction déjà décrit. La liqueur est chauffée et les vapeurs sont condensées.

Dans le distillat nous avons retrouvé 4 γ de chrome par la réaction colorimétrique à la diphénylcarbazide.

Ce résultat concorde bien avec les résultats précédents.

Pour récupérer le chrome nous avons opéré, non plus en ajoutant le distillat au résidu sulfurique de destruction (riche en chrome), mais en effectuant l'évaporation en présence de quelques centimètres cubes d'acide sulfurique pur.

16 γ de chrome, sous forme de sel chromique (pour être dans des conditions analogues à celles où se trouve le métal dans le distillat), sont ajoutés à 115 cm³ de distillat additionnés de 10 cm³ d'acide sulfurique. La liqueur est chauffée et les vapeurs condensées ; la recherche du chrome dans le distillat a permis de trouver 1 γ 2 de chrome.

Cette expérience revient à dire que pour 350 mg. de chrome dans une destruction de 100 g. de matières organiques, durant une heure, après évaporation du distillat en présence de quelques cm³ d'acide sulfurique pur, on n'a observé qu'un entraînement de 0 mg. 0012 de chrome soit une perte de 0,003 %. Ceci est tout à fait négligeable.

Le résidu sulfurique d'évaporation est ajouté au résidu de destruction pour doser le chrome après oxydation au persulfate et au nitrate d'argent.

En résumé, dans l'attaque des matières organiques par l'acide nitrique, comme par l'acide perchlorique, il y a entraînement du chrome, en quantité très faible, il est vrai, mais, pouvant devenir importante par rapport au chrome initial, si la prise d'essai de chrome est faible. Il n'y a pas de règle fixe dans cet entraînement ; il est parfois plus important en milieu nitrique qu'en milieu perchlo-

rique, parfois c'est l'inverse. Toutefois, les quantités de métal qui passent dans les vapeurs se formant dans la destruction, sont du même ordre de grandeur dans ces deux phases.

Nous avons résumé les résultats des expériences citées précédemment dans le tableau suivant :

TABLEAU N° XI.

Entraînement du chrome III au cours de la destruction.

Nature de l'attaque	Cr ajouté en mg.	Cr entraîné en γ	Sub- stance or- ganique en g.	Volume des réactifs	Durée
Nitro-sulfo-perchlorique	0,1	1,4	50 g.	55 cm ³	35'
—	1	2,4	100	110	50'
—	350	16	100	102	60'
Id. { phase nitrique	350	28	220	200	28'
Id. { phase perchlorique ..		13	—	50	35'
Id. { phase nitrique	1.000	8,4	183	200	45'
Id. { phase perchlorique ..		9,6	—	50	40'

Il n'y a aucune régularité dans les entraînements observés, et les quantités de chrome qui se retrouvent dans le distillat varient avec les circonstances de l'opération et en particulier avec sa rapidité et sa turbulence.

Nous avons pensé, au début, qu'il y avait un entraînement vésiculaire. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons effectué des destructions en employant des quantités de chrome et de manganèse identiques. S'il y avait eu entraînement vésiculaire, nous aurions dû retrouver dans le distillat des quantités égales de chrome et de manganèse. Nous avons choisi le manganèse en raison de sa fixité et des méthodes de dosage très sensibles de cet élément.

Nous avons toujours retrouvé beaucoup plus de manganèse dans le distillat que de chrome. L'entraînement vésiculaire ne peut donc pas être la cause essentielle des pertes de métaux fixes au cours de l'attaque, ou alors il faudrait expliquer l'excédent de manganèse par la présence, dans les tissus animaux, de manganèse sous une forme spécialement volatile. Certains faits nous inclinent à accepter cette hypothèse.

En effet, nous avons constaté la présence de quantités relativement importantes de manganèse dans le liquide de condensation des vapeurs émises au cours de la destruction de tissus animaux

(foie de bœuf, sang de chien, par exemple). Lors de l'oxydation au persulfate et au nitrate d'argent, il se produit une coloration rose, souvent prononcée, de permanganate. Cette quantité de manganèse retrouvée dans le distillat est importante par rapport au manganèse des tissus. Ceci semblerait donc bien prouver qu'il existe, dans les tissus animaux, du manganèse sous une forme spéciale, particulièrement volatile au cours de la destruction.

Nous avons vu que la récupération du chrome passé dans le distillat, s'effectue dans les meilleures conditions en redistillant le liquide condensé, en présence de quelques centimètres cubes d'acide sulfurique pur. Voici résumés dans ce tableau les résultats obtenus en opérant suivant les techniques décrites précédemment.

TABLEAU N° XII.

Récupération du chrome par redistillation du distillat.

Nature de l'opération	Teneur du distillat Cr en γ	Teneur du redistillat Cr en γ
Redistillation en présence du liquide de destruction renfermant : 1.000 mg. de Cr	18	6
Redistillation en présence du liquide de destruction renfermant : 350 mg. de Cr	16	4
Redistillation en présence de 10 cm ³ d'acide sulfurique pur exempt de Cr.....	16	1,2

L'entraînement du chrome étant démontré et sa récupération étant effectuée aisément par une simple distillation en milieu sulfurique, il restait à chercher les raisons de cet entraînement.

Dans ce but, nous avons étudié le sort du chrome en milieu : acide nitrique, chlorhydrique, perchlorique et sulfurique.

Entraînement du chrome par distillation en milieu acide minéral.

En milieu perchlorique le chrome trivalent n'est que très peu entraîné. Nous avons opéré de la manière suivante :

350 mg. de chrome, ajoutés sous forme de chlorure chromique sont dissous dans 200 cm³ d'eau et en présence de 50 cm³ d'acide

perchlorique $d = 1,61$. La distillation est effectuée dans l'appareil à destruction de Kahane jusqu'à émission de fumées blanches d'acide perchlorique. La recherche du chrome est pratiquée sur le distillat, après concentration en milieu sulfurique, comme il a été décrit précédemment, et oxydation au persulfate et nitrate d'argent. Il est passé au cours de la distillation 5 γ 6 de chrome, c'est-à-dire une quantité faible.

Nous avons cherché si le chrome hexavalent se comportait en milieu perchlorique comme le chrome trivalent.

350 mg. de Cr (à l'état de bichromate) sont dissous dans 200 cm³ d'eau contenant 50 cm³ ClO⁴H $d = 1,61$. L'opération est effectuée dans les mêmes conditions que précédemment. La distillation a duré 45 minutes. Le distillat additionné de 5 cm³ d'acide sulfurique pur, est évaporé jusqu'à émission de fumées blanches d'acide sulfurique. Après dilution, l'oxydation est effectuée par le persulfate et le nitrate d'argent. La liqueur donne, avec la diphénylcarbazine, une réaction intense. Le dosage volumétrique au sel ferreux et permanganate a permis de retrouver 389 γ de chrome.

L'entraînement du chrome hexavalent en liqueur perchlorique est donc beaucoup plus considérable que celui du Cr trivalent.

Nous avons étudié également le sort du chrome dans la concentration sulfurique. Ici encore, le chrome hexavalent se montre volatil, le chrome trivalent étant au contraire particulièrement stable. Les expériences suivantes le prouvent :

350 mg. de chrome hexavalent (ajouté sous forme de bichromate de potassium) sont dissous dans 100 cm³ d'eau additionnée de 50 cm³ d'acide sulfurique. La distillation dure 30 minutes. Les vapeurs sont condensées et, dans le distillat, après évaporation en présence de 5 cm³ d'acide sulfurique et oxydation au persulfate, la présence du Cr hexavalent a pu être constatée par la diphénylcarbazine. Le dosage volumétrique a permis de retrouver 289 γ de chrome, quantité très importante par conséquent.

Une expérience identique effectuée avec 350 mg. de chrome trivalent (acétate chromique) avec distillation jusqu'à l'apparition des fumées blanches d'acide sulfurique n'a pas permis de retrouver la moindre trace de chrome par la diphénylcarbazine.

Le chrome trivalent n'est donc pas entraîné dans la concentration sulfurique ; le chrome hexavalent l'est au contraire en quantité importante.

Nous avons effectué ensuite l'étude de l'entraînement en milieu acide nitrique.

10 mg. de chrome hexavalent (sous forme de bichromate) sont ajoutés à 100 cm³ d'acide nitrique ($d = 1,39$) et 10 cm³ d'acide sulfurique dans le ballon à destruction et distillés. Les vapeurs sont condensées dans le réfrigérant. Nous avons retrouvé dans le liquide distillé, après le traitement ordinaire, 23 γ de chrome, c'est-à-dire une quantité très importante étant donné la prise d'essai.

Une autre opération effectuée avec 350 mg. de chrome hexavalent (sel employé : bichromate de potassium) et 100 cm³ d'acide nitrique ($d = 1,39$) et 10 cm³ d'acide sulfurique, a permis de retrouver dans le distillat 436 γ . La distillation avait duré 35 minutes.

Une troisième opération, effectuée dans les mêmes conditions, avec 350 mg. de chrome hexavalent a permis de retrouver dans le distillat 341 γ .

Par conséquent la distillation du Cr^{VI} en présence d'acide nitrique donne lieu à une perte très importante du métal.

Nous avons cherché si le Cr^{III} subissait le même sort dans les mêmes conditions.

10 mg. 6 de chrome, sous forme de sel chromique, sont ajoutés à 100 cm³ d'acide nitrique ($d = 1,39$) et à 10 cm³ d'acide sulfurique. Le liquide est distillé et les vapeurs condensées comme précédemment. L'opération a duré une heure. La recherche du chrome dans le distillat, traité convenablement, a été négative.

La même opération effectuée en employant 350 mg. de sel chromique, n'a pas permis davantage de retrouver du chrome par la diphénylcarbazine dans le distillat.

Par conséquent, la distillation du Cr^{III} en milieu acide nitrique, ne donne pas de pertes. Il n'y a entraînement de chrome dans le distillat, que si le chrome se trouve à l'état oxydé au maximum, c'est-à-dire à l'état hexavalent.

Nous avons cherché également l'influence de l'acide chlorhydrique sur l'entraînement au cours de la destruction. Il était possible de supposer qu'en milieu chlorhydrique, il y aurait un fort entraînement de chrome, les chlorures étant généralement réputés particulièrement volatils (il pouvait également y avoir production de chlorure de chromyle).

10 mg. de chrome sont ajoutés à 100 cm³ d'acide chlorhydrique et 10 cm³ d'acide sulfurique. La distillation est effectuée en 45 mi-

nutes, jusqu'à concentration en liqueur sulfurique. La recherche dans le distillat par la diphénylcarbazine n'a pas permis de retrouver du chrome.

La même opération effectuée avec 350 mg. de chrome, la distillation ayant duré trente-cinq minutes, a permis de retrouver 5 γ de chrome entraînés dans les vapeurs. Cette quantité est très faible par rapport à la quantité de chrome initiale.

La distillation de 100 cm³ d'acide chlorhydrique contenant 350 mg. de chrome et 10 cm³ d'acide sulfurique, effectuée en présence de 2 g. d'hypophosphite de sodium pour rendre le milieu fortement réducteur, et conduite en 35 minutes, n'a pas permis de retrouver de chrome dans le liquide condensé.

La distillation en milieu acide chlorhydrique n'intéresse évidemment que le chrome ^{III} puisque le bichromate est réduit par l'acide chlorhydrique concentré avec dégagement de chlore.

Nous avons effectué également une distillation d'un mélange de 100 cm³ d'acide chlorhydrique et 100 cm³ d'acide nitrique auxquels 350 mg. de Cr^{III} avaient été ajoutés. Dans le distillat la diphénylcarbazine a permis d'identifier 3 γ de chrome.

De cet ensemble d'essais, nous pouvons conclure que la distillation en milieu acide minéral donne lieu à une perte de chrome importante si le métal est à l'état hexavalent, mais que cette perte est nulle ou excessivement faible si le chrome est trivalent, ceci aussi bien pour l'acide perchlorique que pour les acides nitrique, chlorhydrique et sulfurique.

Les résultats des essais d'entraînement du chrome par distillation en milieu acide minéral sont rassemblés dans les tableaux suivants :

TABLEAU N° XIII.

Entraînement en milieu acide minéral du Cr^{III}.

Nature du milieu	Cr ajouté en mg.	Cr entraîné en γ
ClH	10	0
—	350	5
NO ³ H	10	tr
—	350	0
NO ³ H + ClH (vol. ég.)	350	3
ClO ⁴ H	350	6

TABLEAU N° XIV.

Entraînement en milieu acide minéral du Cr^{VI}.

Nature du milieu	Cr ajouté en mg.	Cr entraîné en γ
NO ³ H	10	23
—	350	436
—	350	341
ClO ⁴ H	350	389
SO ⁴ H ²	350	289

Si les causes de l'entraînement du chrome dans la destruction ne sont pas complètement élucidées, il est un point toutefois qui peut être considéré comme acquis.

Si le chrome présente une telle stabilité au cours de la destruction des matières organiques, il faut l'attribuer au fait que le chrome se trouve à l'état trivalent. Nous avons vu, en effet, que seul le chrome hexavalent donne lieu à des pertes importantes en milieu acide minéral.

Un point confirme l'hypothèse de l'état trivalent du chrome dans la destruction. Même si le milieu est oxydant (ceci s'obtient en ajoutant continuellement de l'acide nitrique, goutte à goutte au cours de l'attaque nitrique, et du mélange nitro-perchlorique, pendant l'attaque perchlorique de façon à éviter le charbonnement), le chrome se trouve toujours, après la destruction, à l'état de sel de chrome.

Il est permis de supposer plusieurs causes à l'entraînement du chrome dans la destruction : rôle simultanée des acides chlorhydrique, perchlorique et nitrique ; peut-être faut-il voir ici surtout le rôle de l'acide nitrique. En effet, au cours de l'attaque une certaine partie de l'acide nitrique distille sans agir comme oxydant.

Le chrome peut se trouver partiellement dans les organes à l'état de Cr^{VI}, la majeure partie étant à l'état de Cr^{III}. Ceci permettrait d'expliquer que les quantités de chrome retrouvées dans la destruction soient, d'une part, inférieures à celles qui se produisent dans la distillation en milieu nitrique et perchlorique du Cr^{VI}, et d'autre part, soient supérieures à celles qui se retrouvent d'une façon générale dans la distillation du Cr^{III} en milieu acide minéral.

Il n'en reste pas moins vrai que la méthode de destruction nitro-sulfo-perchlorique, convient parfaitement à la destruction des tissus, et au dosage direct du chrome dans le résidu, sans donner de pertes appréciables au cours des attaques diverses.

La récupération du chrome entraîné dans le distillat, peut être effectuée d'une façon sensiblement parfaite par redistillation, en présence de quelques cm^3 d'acide sulfurique pur, puisque la destruction de 100 g. de tissus contenant 350 mg. de chrome après redistillation du distillat ne donne lieu qu'à une perte de 1 γ 2 de chrome, soit environ 1 pour 350.000.

TECHNIQUES DE RECHERCHE ET DE DOSAGE TOXICOLOGIQUES DU CHROME

I. — Techniques antérieures.

Avant d'exposer la technique de recherche et de dosage du chrome que nous avons mise au point, nous donnerons brièvement quelques indications sur les techniques employées précédemment afin de pouvoir comparer entre elles ces différentes méthodes.

En 1853, JAILLARD [41] traitait les tissus par calcination avec du nitrate de potassium dans un creuset de platine. Le résidu était repris par l'eau. Après addition d'acide chlorhydrique et d'alcool qui donnait une teinte verte, il précipitait le chrome par l'ammoniaque. Le précipité était lavé, puis ensuite dissous dans l'acide chlorhydrique et caractérisé par le précipité vert formé par les alcalis avec redissolution dans un excès, par le précipité vert soluble dans un excès de réactif, fourni par le phosphate de sodium, soit encore par le précipité vert donné par le sulfhydrate d'ammoniaque.

JAILLARD ne donne donc qu'une technique de recherche ; celle-ci aurait pu être transformée facilement, toutefois, en procédé pondéral.

VIRON [86] détruit la matière organique par l'azotate de potassium et le carbonate de potassium ; le chrome est alors transformé en chromate de potassium. Le résidu est alors repris par l'eau distillée, puis, après acidification par l'acide acétique, traité par l'azotate de plomb. Il se produit alors un précipité de chromate de plomb. Celui-ci est lavé à l'aide d'une solution de tartrate d'ammonium pour dissoudre le précipité de sulfate de plomb, puis à l'eau chaude pour dissoudre le chlorure de plomb. Le précipité de chromate de plomb est ensuite desséché et pesé.

VIRON a utilisé également une technique volumétrique de dosage du chrome.

Le résidu de cendres repris par l'eau, est traité par une solution

titrée d'azotate d'argent jusqu'à ce que le précipité de chlorure d'argent, formé par le chlore des tissus, soit légèrement teinté. A ce moment, il note le volume de solution d'azotate d'argent. Puis il continue l'addition de la solution titrée jusqu'à ce qu'une goutte de la solution de chromate donne un précipité noir par contact avec une goutte de solution de sulfure de sodium. De la différence des deux chiffres de solution d'azotate d'argent employée, VIRON déduit la teneur en chrome.

VIRON a donc apporté un perfectionnement important dans la technique de recherche et de dosage du chrome. Mais ses procédés manquent encore de sensibilité et d'exactitude.

D'ailleurs, VIRON n'indique pas les chiffres qu'il a retrouvés dans les divers organes. Il considère ce procédé plutôt comme un moyen de recherche qualitative puisqu'il ne fait qu'indiquer s'il y a présence ou non dans tel ou tel organe.

LEHMANN [55] apporte, par contre, une technique de dosage volumétrique du chrome, qui lui a permis d'étudier la répartition du toxique dans les divers organes des animaux soumis aux intoxications chroniques. Malheureusement, cette technique est trop peu sensible pour cette étude ; aussi, n'a-t-il retrouvé que très rarement du chrome dans les tissus et l'on est tenté de croire que la mort s'est produite sans que le chrome ait été sensiblement absorbé. Cette technique aurait été, par contre, bien assez sensible pour l'étude de la répartition du chrome dans les intoxications aiguës où le toxique n'a pas eu le temps d'être éliminé.

Voici d'ailleurs la technique adoptée par LEHMANN : 50 g. d'organes divisés sont traités par 20 cm³ d'acide nitrique concentré à chaud. Le chauffage est poussé jusqu'à calcination. Celle-ci est maintenue pendant trois heures. Le charbon est épuisé à l'eau chaude et la liqueur filtrée mise de côté. Le filtre, avec son résidu, est traité par du carbonate de sodium et de l'azotate de potassium jusqu'à fusion. Le résidu est repris par l'eau chaude. La solution filtrée est ajoutée au premier filtrat. Les liqueurs sont additionnées de perhydrol et évaporées à sec. Le résidu est repris par l'eau et le dosage est effectué par colorimétrie.

Mais, lorsque les cendres sont riches en fer, celles-ci, malgré la fusion, retiennent du chrome avec l'oxyde de fer. En répétant une ou deux fois la fusion alcaline du résidu ferrugineux, tout le

chrome passe en solution et le dosage peut être terminé comme précédemment.

Dans certains cas, l'extrait aqueux de la première fusion contient encore du fer. LEHMANN fait alors une ébullition prolongée avec du perhydrol et de la soude. La solution est laissée au repos puis filtrée pour séparer le fer. Le précipité est ensuite soumis à la fusion alcaline comme précédemment.

Les diverses portions contenant du chrome sont réunies puis titrées en milieu acide par l'iodure de potassium et l'hyposulfite de sodium.

Cette dernière technique est certainement plus rationnelle que le dosage colorimétrique. En effet, les solutions de chromates et de bichromates présentent des teintes très variables suivant la concentration en chrome et il nous paraît difficile d'obtenir un dosage correct par cette méthode.

KOHN-ABREST [65], dans son *Traité de Toxicologie* préconise la destruction des tissus par le chlorate selon la technique d'Ogier. Le chrome se trouve sous forme de chlorure de chrome. Par déflagration avec l'azotate de potassium, le chrome se trouverait à l'état de chromate de potassium soluble.

Il effectue le dosage, soit par précipitation d'hydroxyde de chrome par l'ammoniaque, si le chrome est à l'état de sel chromique, soit par précipitation à l'état de chromate de plomb par l'acétate de plomb en milieu acétique si le chrome est sous forme de chromate. Dans ce cas, le chrome peut être également dosé, dit-il, à l'état d'oxyde O^3Cr^2 après réduction du chromate par l'acide chlorhydrique et l'alcool puis précipitation par l'ammoniaque.

Des différentes techniques de recherche et de dosage toxicologiques du chrome exposées ci-dessus, il n'y en a pas qui donne entière satisfaction. En général, ces méthodes manquent de sensibilité et souvent même d'exactitude. Toutefois la technique volumétrique de Lehmann peut dans certains cas rendre des services. Nous ferons remarquer qu'étant donné le nombre de manipulations à effectuer, il paraît difficile d'obtenir avec ce procédé une exactitude satisfaisante ; d'autre part, cette technique n'est pas assez sensible pour étudier la répartition du chrome dans les intoxications chroniques.

Nous exposerons par la suite les conditions dans lesquelles nous nous sommes placé pour retrouver avec certitude des quantités infimes de chrome.

II. — Technique de recherche et de dosage toxicologique du chrome adoptée.

Pour rechercher et doser le chrome en solution pure, nous avons adopté, suivant la quantité de métal, la méthode volumétrique au sel ferreux et permanganate, ou le dosage colorimétrique à la diphénylcarbazine.

Nous avons cherché à appliquer ces techniques à la recherche et au dosage du chrome dans un résidu de destruction.

La technique de destruction nitro-sulfo-perchlorique aboutit à une minéralisation totale du milieu ; par la suite, nous verrons que ceci a simplifié considérablement notre travail en ce qui concerne l'application de ces techniques à la recherche toxicologique.

En général, en toxicologie, l'identification d'un élément n'est jamais effectuée directement sur le résidu de destruction. Le métal est ordinairement isolé de ce milieu complexe par précipitation ou entraînement sous une forme variable, cette opération ayant pour but de le séparer des impuretés et de le concentrer dans un volume plus faible. Ce procédé est comparable, en quelque sorte, à la purification que l'on fait subir à un alcaloïde extrait de viscères, avant de chercher à effectuer sa caractérisation.

Nous avons pensé au contraire à rechercher et doser le chrome directement dans le résidu de destruction. Pour que ceci fût possible, il fallait évidemment que le résidu de destruction des matières organiques, fût sans action sur le couple sel ferreux-permanganate, d'une part et sur la diphénylcarbazine, d'autre part.

Ceci n'a été possible que sur les résidus de destruction obtenus par la méthode nitro-sulfo-perchlorique ; les autres méthodes n'aboutissaient pas à une destruction intégrale et les matières organiques résiduelles rendaient la recherche ultérieure du chrome impossible directement.

Nous avons évidemment rencontré quelques difficultés dans la mise au point de ces techniques.

L'obtention d'un résidu sans action sur le permanganate nécessite en effet une certaine habitude de la méthode nitro-sulfo-perchlorique. La destruction doit être conduite d'une façon un peu spéciale à partir de la phase perchlorique de l'opération.

Il faut ajouter le mélange nitro-perchlorique ainsi que nous

l'avons indiqué au chapitre « Destruction de la matière organique » de façon qu'il réagisse immédiatement à l'addition de chaque goutte. Dans ces conditions, il ne peut y avoir un excès d'acide perchlorique dans le résidu sulfurique de destruction ; par suite, le précipité de perchlorate d'ammonium sera réduit au minimum ou même sera nul suivant la quantité de matière organique à détruire et ne nécessitera l'addition que d'un faible volume d'eau pour sa dissolution (1).

Le résidu de destruction est alors coloré en jaune pâle. Un excès d'acide perchlorique n'amène pas de changement de teinte. Par contre l'addition, après refroidissement partiel, de quelques gouttes d'acide nitrique, $d = 1,38$, provoque la destruction et par suite la décoloration immédiates.

Dans ces conditions, le résidu est sans action sur le permanganate ainsi que nous l'ont montré des essais témoins, ou a une action si faible qu'elle est négligeable en ce qui concerne le dosage volumétrique. Toutefois, le traitement ultérieur, après dilution, par le persulfate à l'ébullition provoque la destruction des traces de matières réductrices et il n'y a plus réduction du permanganate.

Le chrome, à la fin d'une destruction nitro-sulfo-perchlorique ou nitro-perchlorique se trouve à l'état trivalent. Ceci s'explique par la présence de matières réductrices au cours de la destruction ; d'autre part l'acide sulfurique décompose à chaud le bichromate de potassium ainsi que l'a montré JACQUELAIN [40] en amenant le chrome à l'état trivalent. De plus, il n'y a jamais assez d'acide perchlorique en présence de l'acide sulfurique pour que l'oxydation du chrome se produise.

Le résidu de destruction sera donc plus ou moins coloré en vert, suivant sa teneur en chrome. Lorsque cette coloration est perceptible, c'est d'ailleurs l'indice d'une teneur assez élevée en métal.

Pour oxyder le chrome, nous avons songé, au début, à utiliser l'acide perchlorique, mais nous avons dû renoncer à ce procédé. Nous avons montré que l'oxydation du chrome par l'acide perchlorique n'était quantitative en présence d'acide sulfurique que si le volume d'acide perchlorique était au moins égal à celui de l'acide sulfurique (voir p. 71) le temps de chauffage nécessaire à l'oxydation étant de 2 minutes environ à une douce ébullition.

(1) Le perchlorate d'ammonium est en effet insoluble en milieu acide concentré, mais par dilution il se dissout très facilement.

La destruction de 200 g. de tissus nécessitant 50 cm^3 environ d'acide sulfurique, il aurait fallu utiliser au moins 50 cm^3 d'acide perchlorique $d = 1,61$, pour oxyder le chrome, ce qui représentait un volume global d'acides de 100 cm^3 . Mais, dans ces conditions, les sels ammoniacaux formés au cours de la destruction, précipitent avec l'acide perchlorique en donnant un magma épais ; d'où, la nécessité d'employer un volume d'acide perchlorique supérieur encore au volume théorique suffisant à assurer l'oxydation du chrome.

La recherche ultérieure du chrome nécessite alors la dilution par l'eau distillée pour diminuer, d'une part, l'acidité du milieu afin de pouvoir effectuer le dosage, et pour dissoudre le perchlorate d'ammonium d'autre part. Ceci entraîne l'emploi d'un volume important d'eau distillée, atteignant plusieurs centaines de cm^3 . Dans ces conditions, il devient impossible d'effectuer un dosage rigoureux et suffisamment sensible.

Nous avons ensuite cherché à utiliser le perhydrol et la soude pour oxyder le chrome. Mais, nous nous trouvons devant un obstacle du même ordre que celui rencontré précédemment. La neutralisation du résidu de destruction fortement sulfurique, par la soude ou la potasse, donne naissance à une quantité importante de sulfate nécessitant un volume d'eau considérable pour le dissoudre. Ici, également, le dosage, devant se faire sur un volume énorme de liquide, perdait toute sensibilité et toute rigueur.

C'est seulement alors, par analogie avec les méthodes classiques de dosage du manganèse, que nous avons songé à utiliser le persulfate, en présence de nitrate d'argent comme catalyseur, pour oxyder le chrome. Nous nous sommes aperçu par la suite que ce procédé avait déjà été préconisé par IBBOTSON et R. HOWDEN [38]. Nous avons alors déterminé sur des solutions pures, les conditions d'oxydation du chrome ; mais, lorsque nous avons voulu appliquer ces procédés à l'oxydation du chrome de résidus de destruction, nous nous sommes heurté à de nouvelles difficultés. Parfois le chrome trivalent était transformé en chrome hexavalent et parfois cette transformation n'avait pas lieu. Nous nous sommes aperçu que ceci était dû à la disparition, du milieu, de notre catalyseur, le nitrate d'argent. L'acide chlorhydrique provenant du chlore des tissus était parfois présent et parfois absent dans le résidu de destruction, suivant la façon dont l'opération avait été menée

Pour éliminer ce trouble, il suffit de porter à l'ébullition, quelques instants, le résidu de destruction après le traitement final à l'acide nitrique. Dans ces conditions, l'acide chlorhydrique est chassé et après refroidissement et dilution, l'oxydation pourra être effectuée par le persulfate en présence de nitrate d'argent, sans risque d'échecs.

Ce procédé d'oxydation est commun aux sels manganoux et aux sels chromiques. Les sels manganoux sont, en effet, transformés, dans ces conditions, en permanganate ; aussi se produit-il souvent par oxydation du chrome d'un résidu de destruction, une coloration rose de permanganate variable suivant la teneur en manganèse normal du tissu.

Ceci provoque des erreurs par excès aussi bien dans le dosage volumétrique que dans le dosage colorimétrique.

Dans un macrodosage, ceci pourrait être négligé, étant donné la faible teneur en manganèse des tissus, mais dans un microdosage, il est indispensable de ramener le manganèse à l'état de sels manganoux qui n'apportent plus de trouble.

Un des procédés de décomposition du permanganate les plus employés et le plus simple, est l'action de l'acide chlorhydrique à chaud. Il n'était évidemment pas possible d'opérer cette réduction par l'acide chlorhydrique concentré, car, dans ces conditions, le chrome hexavalent est ramené à l'état trivalent avec libération de chlore. Il était même possible, qu'en milieu dilué, il y ait une réduction partielle du bichromate. Nous avons voulu nous assurer si cette réduction se produisait ou non.

Si pour des quantités relativement importantes de chrome (quelques mg.) il ne semble pas y avoir de réduction par l'acide chlorhydrique dilué à chaud, nous avons cru au début, que pour des quantités de l'ordre du $\frac{1}{100}$ de mg. cette réduction n'était pas négligeable. Par la suite, nous nous sommes aperçu qu'une simple ébullition du liquide en présence d'acide sulfurique, produisait une réduction du même ordre du chrome hexavalent.

Nous avons reconnu que cette réduction était due à la présence de traces de matières organiques dans l'eau distillée utilisée. Il est évident qu'il suffit d'une très faible quantité de matières organiques pour réduire des quantités de bichromate représentant quelques millièmes de mg. de chrome.

Par contre, cette réduction est évitée, si un traitement au persulfate est effectué. Les substances réductrices de l'eau sont alors oxydées et le traitement à l'acide chlorhydrique dilué, pour détruire le permanganate, ne provoque plus de réduction sensible du chrome hexavalent puisque pour 2 γ de chrome nous avons retrouvé 1 γ 75 et pour 5 γ , 4 γ 5 de chrome.

Nous avons signalé que l'oxydation d'un résidu de destruction par le persulfate de potassium en présence de nitrate d'argent, donne souvent une coloration rose de permanganate de potassium. Cette coloration ne se produit que lorsque le chrome a été oxydé. Par conséquent, dès que la teinte rose de permanganate apparaîtra, on pourra porter la solution à l'ébullition pour décomposer l'excès de persulfate. Si la solution présente la coloration jaune due au chrome hexavalent, on utilisera, par la suite, le dosage volumétrique. Dans ce cas, il faut décomposer totalement le persulfate, sinon celui-ci provoquerait des erreurs par excès, en oxydant le sulfate ferreux. Nous avons montré que 10 minutes d'ébullition suffisaient pour décomposer totalement le persulfate. La décomposition du persulfate étant obtenue, il suffit d'ajouter, à chaud, quelques gouttes d'acide chlorhydrique pour détruire le permanganate. Après refroidissement, on emploiera le dosage volumétrique au sel ferreux.

Lorsque la quantité de chrome contenue dans le résidu de destruction est très faible, il n'apparaît pas de coloration jaune par oxydation au persulfate ; il faudra donc utiliser le dosage colorimétrique à la diphénylcarbazide. Par contre, il se produit généralement une teinte rose de permanganate, due à l'oxydation du manganèse normal des tissus. La teinte rose indique que tout le chrome présent est oxydé. La décomposition du persulfate peut, alors, être effectuée. Au bout de 3 à 4 minutes d'ébullition, une grande partie du persulfate est décomposée. Dans ce cas, nous n'attendons pas la destruction totale du persulfate pour réduire le permanganate par l'acide chlorhydrique. En effet, des traces de persulfate ne gênent sensiblement pas le dosage colorimétrique. La décoloration de la solution permet d'ailleurs de suivre la décomposition du persulfate. Une fois la teinte rose de permanganate disparue, la solution est refroidie et le dosage colorimétrique est effectué.

La recherche du chrome dans les organes de chiens intoxiqués,

telle que nous l'avons faite ne s'adresse généralement qu'à des quantités de tissus inférieures à 200 g. Il est possible d'augmenter la rigueur du procédé de destruction et de recherche, en opérant sur une portion de l'organe après avoir fait un échantillon homogène, ou si la quantité de chrome est supposée faible en fragmentant l'organe en plusieurs portions et en effectuant leur destruction dans le même ballon, les unes après les autres. La faible quantité de métal, qui a pu être entraînée dans les vapeurs, pourra être récupérée par distillation du liquide de condensation en présence de quelques cm^3 d'acide sulfurique. Par ce procédé, il est possible d'effectuer la destruction de gros organes en n'utilisant qu'un faible volume d'acide sulfurique

Voici la technique que nous avons utilisée au cours de nos dosages de chrome dans les tissus d'animaux intoxiqués, après destruction nitro-sulfo-perchlorique

Mode opératoire.

200 g. de tissus divisés ou non, sont introduits dans le ballon en pyrex à fond rond de 1500 cm^3 de l'appareil de Kahane et additionnés de 80 cm^3 d'acide nitrique ($d = 1,39$) et de 40 à 50 cm^3 d'acide sulfurique ($d = 1,81$), quelques billes de verre favorisent l'ébullition. Il se forme, au début, une mousse abondante qui est détruite rapidement lorsqu'on chauffe violemment au bec bunsen la paroi latérale du ballon, au niveau de la surface du liquide. Le chauffage du fond du ballon, peut ensuite être effectué énergiquement, sans danger, à travers une toile métallique.

Il se produit d'abord une attaque nitrique avec dégagement d'abondantes vapeurs nitreuses. La substance se trouve désagrégée à l'exception d'une couche surnageante de matières grasses.

Au bout d'un certain temps, tout l'acide nitrique a réagi ou a été éliminé ; à ce moment, la masse se colore en brun, puis en noir. Le chauffage est continué jusqu'à obtention d'un liquide noir foncé, de consistance sirupeuse, adhérant légèrement aux parois lorsque le ballon est agité. A ce moment, nous ajoutons goutte à goutte le réactif nitro-perchlorique, obtenu en mélangeant 2 volumes de ClO_4H $d = 1,61$ pour un volume de NO_3H $d = 1,39$

Dans ces conditions, il se dégage des fumées blanches qui indiquent que l'oxydation perchlorique se produit. Au point de chute

de la goutte perchlorique, il apparaît un dégagement abondant de bulles gazeuses. Le mélange nitro-perchlorique est ajouté jusqu'à destruction sensiblement complète en veillant à ne pas employer un excès d'acide perchlorique qui donnerait, par refroidissement, un précipité de perchlorate d'ammonium.

Cette phase ne nécessite qu'un chauffage modéré, la réaction perchlorique étant exothermique.

La destruction est rendue complète par l'addition de quelques gouttes d'acide nitrique au résidu sulfurique partiellement refroidi ; on obtient alors un résidu incolore en l'absence de chrome et vert si le chrome se trouve en quantité suffisante.

Le résidu sulfurique est ensuite dilué avec de l'eau distillée de façon à avoir une concentration en acide inférieure à 10 % en volumes. La liqueur est portée à l'ébullition puis additionnée de 2 à 3 gouttes d'une solution de nitrate d'argent à 1 %. A ce moment, le chauffage est interrompu pour permettre l'addition d'une solution de 1 g de persulfate de potassium environ dans 20 à 30 cm³ d'eau distillée. Le mélange est chauffé jusqu'à nouvelle ébullition du liquide. Ensuite, le chauffage est diminué de façon à ne pas décomposer le persulfate trop rapidement et lui permettre d'oxyder le chrome. Un deuxième traitement identique pourra être effectué pour oxyder sûrement tout le chrome lorsque celui-ci se trouve en quantité importante.

Le manganèse des tissus donne alors une coloration rose. A partir de ce moment, le persulfate peut être décomposé, tout le chrome est oxydé (en effet le manganèse ne s'oxyde qu'après le chrome).

La fiole est chauffée à l'ébullition pour détruire l'excès de persulfate. Au bout de cinq minutes, la presque totalité du persulfate est décomposée. L'addition de 2 à 3 gouttes d'acide chlorhydrique provoque la réduction du permanganate avec la disparition de la teinte rose (cette décoloration permet, d'ailleurs, de suivre la décomposition du persulfate).

Si le liquide contient une quantité suffisante de chrome lui donnant une coloration jaune, le chauffage pourra être poursuivi à nouveau cinq minutes pour assurer la décomposition totale du persulfate, sans risquer de réduire le chrome hexavalent (des essais témoins nous l'ont prouvé). Dans ce cas il convient d'utiliser le dosage volumétrique.

Si, après ce traitement à l'acide chlorhydrique, la solution est

incolore, il est préférable d'interrompre le chauffage quelques instants seulement après la décoloration du permanganate. Il ne reste plus alors que des traces de persulfate qui ne gênent pas le dosage colorimétrique.

Il est en effet impossible de préjuger de la teneur en chrome de la liqueur puisqu'il n'est pas possible de se guider sur la teinte du liquide.

La fiole est refroidie sous courant d'eau et le dosage colorimétrique est effectué en ajoutant quelques gouttes d'une solution de diphénylcarbazide à 2 ‰ dans l'alcool à 95°, en présence d'acide phosphorique qui élimine le trouble dû au fer, (ceci a son importance particulièrement pour les résidus de destruction d'organes riches en sang).

Le dosage est effectué, soit au colorimètre si la quantité de chrome atteint plusieurs γ par cm^3 , soit par lecture en tube, par comparaison avec un témoin, si la quantité de chrome est très faible.

Voici quelques résultats obtenus en utilisant ces techniques. Dans chaque cas, la destruction a porté sur 50 g. de foie de bœuf auquel avait été ajoutée, sous forme de bichromate, la quantité de chrome à doser. Toutefois dans l'expérience à 1 γ de chrome, la destruction n'a eu lieu que sur 20 g. de substance organique.

TABLEAU N° XV.

Sensibilité de la technique de dosage toxicologique du chrome.

Cr en mg ajouté au foie à détruire	Cr en mg dosé dans le résidu de destruction	Erreur %
52,95 —	53,02 52,53	+ 0,13 % — 0,8
10,59 —	10,43 10,48	— 1,5 % — 1
1,05 —	1,02 1,03	— 3 % — 2
0,53 —	0,52 0,525	— 2 % — 1
0,105 —	0,100 0,104	— 5 % — 1
0,01	0,0093	— 7 %
0,001 —	0,00081 0,00088	— 19 % — 12

En résumé, par la technique décrite, il est possible de retrouver le chrome avec une approximation de 2 à 3 %, jusqu'à 0 mg. 5 ; de 0 mg. 5 à 0 mg. 01 l'approximation est voisine de 5 % c'est-à-dire de l'ordre de l'erreur effectuée dans toute lecture colorimétrique, et pour 0 mg. 001 l'erreur est légèrement supérieure à 10 %.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES DE TOXICOLOGIE EXPÉRIMENTALE

Nous avons soumis le chien à des intoxications aiguës et à des intoxications chroniques en utilisant soit les sels chromiques, soit les bichromates.

Nous n'avons pas pu donner à certaines parties de cette étude, toute l'ampleur que nous aurions voulu, en raison de la difficulté de se procurer les animaux d'expérience.

Dans cette étude expérimentale sur les animaux, nous avons laissé de côté les intoxications par voie respiratoire, par les dérivés du chrome.

Cette partie a été traitée d'une façon remarquable par LEHMANN [55], qui a pu reproduire, chez les animaux, toute la série d'accidents du système respiratoire qui avaient été constatés chez les ouvriers manipulant les dérivés du chrome dans diverses industries.

Cet auteur a déterminé les temps de contact, avec l'atmosphère chargée d'une quantité de chrome déterminée, qui étaient nécessaires à la production, soit d'une inflammation des muqueuses nasales, soit d'abcès, soit de perforation, soit de lésions des bronches et des poumons.

D'autres auteurs sont venus compléter cette étude et ont montré la nocivité pour les voies respiratoires d'une atmosphère, même relativement peu chargée en chrome.

D'autre part, l'étude des lésions de l'épiderme, par contact avec les solutions de chromates-bichromates ou acide chromique ou les sels eux-mêmes, a permis de reproduire expérimentalement chez les animaux, les accidents constatés dans l'industrie.

Cette étude a été reprise par de nombreux auteurs qui n'ont pas apporté d'importantes modifications aux premiers travaux.

Nous avons laissé également de côté ce sujet qui a été traité d'une façon sensiblement complète.

La lecture des ouvrages antérieurs sur la toxicologie des dérivés du chrome nous a permis de constater certains points obscurs ; souvent même les divers auteurs étaient en contradiction absolue les uns avec les autres.

Tous les auteurs sont unanimes à reconnaître la toxicité des chromates et des bichromates à dose massive et se sont attachés à déterminer la dose toxique par voie buccale, sous-cutanée et intraveineuse de ces divers produits. Sur ce point, les conclusions sont très variables, ce qui s'explique d'ailleurs.

En effet, les chromates et les bichromates pris par voie buccale sont émétiques et par conséquent la dose mortelle à ingérer sera excessivement variable selon qu'il se produira ou non des vomissements.

D'autre part, la dose mortelle par injection hypodermique ou intraveineuse peut être différente suivant que l'on veut produire la mort en une heure ou en un nombre variables d'heures.

Ces questions n'ont d'ailleurs pas grand intérêt, l'ordre de grandeur, au point de vue toxicité, étant seul important. Nous ne discuterons pas, ainsi que l'ont fait la plupart des auteurs, pour savoir si les bichromates sont plus toxiques que les chromates ou si les sels de sodium sont plus ou moins dangereux que les sels de potassium.

Nous nous sommes attaché, par contre, à déterminer la localisation du toxique dans les divers organes des animaux en expérience. Ces recherches n'avaient pas été faites ou avaient été mal conduites ; ceci est dû surtout à la défectuosité des techniques de recherche et de dosage toxicologique dont se servaient les différents auteurs. La grande sensibilité de notre technique, nous a permis de suivre le toxique jusque dans les plus petits organes (les glandes endocrines et l'hypophyse en particulier, dont M. R. FABRE a montré l'importance du point de vue des localisations toxicologiques [24] [25].

Nous avons utilisé le chien comme animal d'expérience, à la suite de l'observation de LEHMANN, selon laquelle le chien présentait une grande analogie avec l'homme du point de vue de la sensibilité aux dérivés du chrome, le lapin et le chat résistant, par contre assez bien à l'action toxique du chrome. D'autre part, il est facile

de prélever les plus petits organes chez le chien, ce qui est parfois très délicat sur les petits animaux (cobayes en particulier).

Les prélèvements de sang peuvent être effectués, sur le chien, en quantité suffisante pour diverses recherches, sans pour cela affaiblir l'animal.

L'étude de la répartition du chrome nous a permis de constater une localisation élective, en quelque sorte, dans les glandes endocrines, surtout dans l'intoxication aiguë au bichromate. Nous avons étudié le coefficient de partage érythroplasmatique. Les résultats obtenus nous ont fait penser à rechercher s'il y avait une modification du pigment sanguin ou s'il y avait possibilité d'accidents respiratoires.

Nous avons constaté, en effet, au cours de l'intoxication aiguë au bichromate de potassium, que la respiration était irrégulière, parfois très rapide, puis s'arrêtait brusquement. La dilatation de la cage thoracique atteignait, par instants, une amplitude anormale.

Malheureusement les accidents respiratoires étaient souvent masqués par la gravité des autres lésions (en particulier, hémorragies du tube digestif) ou même n'avaient pas le temps de se manifester, la mort se produisant trop tôt.

Nous avons effectué un certain nombre d'intoxications aiguës au bichromate de potassium par voie buccale, avec des doses variables. Nous avons pu constater ainsi, dans plusieurs cas, des accidents respiratoires très nets. On trouvera, en particulier, un cas bien caractérisé de mort par asphyxie ; l'animal a été ramené à la vie en pratiquant la respiration artificielle (le cœur battait encore après l'arrêt de la respiration).

Par conséquent, la mort peut survenir par asphyxie si la dose de bichromate ingérée est suffisamment faible pour que les lésions du tube digestif, dues à la causticité du produit, ne soient pas trop graves et que l'animal n'ait pas d'hémorragie abondante.

Au cours de ces recherches, nous avons eu connaissance des travaux de RABBENO [69], qui a constaté le pouvoir méthémoglobinisant *in vivo* du bichromate de potassium par injection intraveineuse mortelle. Ce genre d'introduction du toxique n'est peut-être pas très démonstratif.

Nous avons déjà constaté personnellement la production de

méthémoglobine par l'absorption buccale, répétée quotidiennement, de très faibles doses de chrome.

En outre, nous avons pu reproduire ces expériences aussi bien avec le Cr^{vi} qu'avec le Cr^{iii} ; par conséquent, le rôle méthémoglobinisant du chrome métal est très net même lorsqu'il est absorbé à dose très faible, répétée quotidiennement.

Au cours des intoxications aiguës, nous avons recherché les voies d'élimination du toxique. Nous avons constaté l'évacuation par la bile, par l'urine et également par les muqueuses stomacale et intestinale qui jouent un rôle important.

La toxicité des sels de chrome à dose massive d'une part et d'autre part la constatation d'accidents respiratoires, qui ne pouvaient être attribués à la causticité d'un sel en particulier, nous ont amené à penser que le chrome pourrait être toxique sous toutes ses formes, même à faible dose, à condition de poursuivre le traitement un temps suffisant.

Nous avons donc effectué des intoxications chroniques sur des chiens en utilisant les sels chromiques et le bichromate de potassium.

Un seul auteur, VIRON [86], a affirmé la toxicité du chrome sous toutes ses formes (ROUSSEAU [74] ne prenant pas parti nettement, bien qu'il ait entrevu le problème).

LEHMANN [55] conclut à la non toxicité des chromates et bichromates ingérés quotidiennement à dose faible, même pendant un à deux ans.

KOHN-ABREST [52] nie la toxicité des sels de chrome et propose même d'étudier si le chrome ne pourrait être utile comme fortifiant dans le genre du fer ou de ses composés.

Nous avons effectué l'étude de ces intoxications chroniques dans le sens biologique.

L'absorption buccale des dérivés du chrome a provoqué, dans tous les cas, l'apparition d'abcès cutanés et un état anémique allant en s'aggravant. Nous avons donc effectué des numérations globulaires et des formules leucocytaires qui nous ont permis de mettre en évidence une hypoglobulie grave et une hyperleucocytose très poussée, accompagnée d'un excès de polynucléaires neutrophiles, signe d'une infection généralisée.

D'autre part, nous avons suivi les variations de l'urée sanguine et de la glycémie ; ceci nous a permis de mettre en évidence des

lésions du rein et du pancréas qui ont pu être ensuite constatées à l'autopsie.

L'autopsie n'ayant pas montré de lésions de la rate, organe générateur des globules rouges, nous avons recherché le toxique dans la moelle osseuse et nous avons constaté sa teneur élevée en chrome par rapport aux autres organes. Ceci nous permet d'expliquer l'hypoglobulie mise en évidence par la numération globulaire.

Comme dans toutes les anémies graves, cette hypoglobulie était accompagnée de poïkilocytose, d'anisocytose et de polychromatophilie.

D'autre part, l'examen du sang au spectrophotomètre a permis de mettre en évidence de la méthémoglobine chez les animaux intoxiqués de façon chronique au Cr^{VI} ou au Cr^{III} .

Nous avons effectué l'étude de la localisation du chrome chez ces animaux. Cette étude n'a été rendue possible que grâce à l'extrême sensibilité de la méthode de dosage colorimétrique à la diphénylcarbazine.

Nous avons tenu à indiquer brièvement le sens de nos recherches et les raisons qui nous ont conduit. On trouvera, par la suite, un exposé en détail de ces diverses études et les conclusions auxquelles elles nous ont amené.

INTOXICATIONS AIGUES

Nous avons effectué un certain nombre d'intoxications aiguës sur le chien en utilisant le bichromate de potassium. Le développement plus étendu de cette partie par rapport aux suivantes est dû à la facilité avec laquelle nous pouvions nous procurer des animaux à cette époque et aussi à ce que nous voulions confirmer avec certitude les faits constatés dans nos premières expérimentations.

I. — Intoxications aiguës au bichromate de potassium.

1^o INTOXICATIONS PAR VOIE BUCCALE.

Les propriétés émétiques et irritantes des bichromates sont connues depuis longtemps ; aussi, est-il nécessaire pour amener la mort rapidement, par intoxication buccale, de faire absorber à l'animal des quantités importantes de sel, la majeure partie du toxique étant rejeté par les vomissements.

L'absorption du bichromate de potassium, en solution dans l'eau, est effectuée au moyen de la sonde œsophagienne, l'animal étant à jeun de préférence.

Chien n^o 1. — Un chien de 14 kg. reçoit, au moyen d'une sonde œsophagienne, 7 g. de chrome sous forme de bichromate de potassium, en solution dans 150 cm³ d'eau. L'absorption a lieu à 2 h. 45. Au bout de quelques instants l'animal urine abondamment ; il est dans un état d'anxiété très net.

A 2 h. 50 il est pris de vomissements violents puis il défèque. Les matières fécales sont d'aspect normal.

Il sort de la bouche un mucus jaunâtre et abondant.

A 3 h. 5 la bête défèque à nouveau, mais cette fois les matières sont très liquides et sanguinolentes. Afin de provoquer une mort rapide, le chien reçoit à nouveau, à 3 h. 20, 3 g. 50 de chrome, sous

forme de $\text{Cr}^{207}\text{K}^2$, dissous dans 40 cm³ d'eau. Une minute après l'absorption l'animal vomit, puis se couche immédiatement. Les vomissements se répètent périodiquement et semblent très douloureux. A partir de 3 h. 40 l'animal pousse des gémissements. La respiration est difficile et irrégulière.

A 3 h. 50, l'animal est complètement inerte, les pattes antérieures sont raidies et le corps allongé. Les réflexes sont presque nuls. La mort se produit à 3 h. 55, soit 1 h. 10 après la première absorption de bichromate. La quantité totale ingérée a été de 10 g. 50 en chrome ; en fait celle-ci est beaucoup inférieure, une grande partie du toxique ayant été éliminée par les vomissements.

L'empoisonnement au bichromate provoque des douleurs terribles, avec vomissements très pénibles et hémorragies de presque tout le tube digestif.

A l'autopsie l'animal présente des hémorragies de l'estomac et de tout l'intestin ; le contenu intestinal est constitué en majeure partie par du sang.

Le tableau suivant indique la répartition du chrome dans les organes du chien n° 1.

TABLEAU N° XVI.

Répartition du chrome dans les organes du chien n° 1.

Organes prélevés	Poids de l'organe en grammes	Cr trouvé en mg.	Cr en mg. pour 100 g. d'organes
Foie	530	98,7	18
Poumons.....	150	8,9	6
Cerveau.....	80	0,3	0,37
Reins.....	100	15,28	15
Cœur	105	1,53	1,4
Estomac (parois)	170	77,38	45
Estomac (contenu)	75	206,7	—
Intestins (parois)	335	18,07	5
Intestins (contenu)	60	12,77	21
Sang	40	2,50	6
Rate	32	1,46	4,5
Pancréas	42	2,20	5
Vessie	23	0	0
Vésicule biliaire + bile.....	11	0,73	6

La quantité totale de chrome retrouvé dans les différents organes a été de 0 g. 446.

En admettant que le poids du sang total d'un chien soit voisin du 1/12 de son poids, la quantité de chrome contenu dans le torrent circulatoire était de 72 mg. environ.

Le chrome total fixé sur les organes de ce chien a donc été de 0 g. 518. Le chrome retrouvé dans les principaux organes cités dans le tableau XVI, en mettant de côté le tube digestif, est nettement inférieur au chiffre précédent puisqu'il n'est que de 0 g. 201.

Il y a donc une grande disproportion entre la dose de chrome ingérée et la dose de métal retrouvée dans les organes qui est cependant la dose ayant provoqué réellement la mort. Celle-ci atteint à peine 5 % de la quantité de bichromate administrée par voie buccale.

L'examen du tableau sur la répartition du chrome dans les divers organes du chien n° 1, montre que ce sont le foie et les reins qui fixent le plus de métal.

Les muqueuses stomacales et intestinales fixent des quantités importantes de bichromate. La substance cérébrale ne contient par contre que de faibles quantités de chrome.

La présence de chrome dans la bile indique qu'il y a élimination du toxique par cette voie.

Chien n° 2. — Un chien de 15 kg. reçoit à 3 h. 25, à la sonde œsophagienne, 1 g. 75 de chrome, sous forme de bichromate de potassium, en solution dans 50 cm³ d'eau. L'animal est maintenu sur le dos un moment. A 3 h. 30, il présente des contractions abdominales excessivement violentes ; toutefois il ne vomit pas encore. A 3 h. 35 des vomissements intenses apparaissent. L'animal est détaché à 3 h. 45. Il présente de la prostration, il pousse des gémissements plaintifs, se couche et recherche l'obscurité ; une bave abondante s'écoule de la gueule. Il se produit un refroidissement progressif des extrémités. La respiration devient pénible et irrégulière. Le sphincter anal est relâché et les matières s'écoulent goutte à goutte. La mort se produit à 5 h. sans réactions particulières.

A l'autopsie l'estomac est hémorragique ; il est coloré en brun rougeâtre ; ceci étant dû au bichromate et au sang. Le contenu stomacal est constitué en partie par du sang. L'intestin présente des hémorragies plus nettes encore que l'estomac.

TABLEAU N° XVII.

Répartition du chrome dans les organes du chien n° 2.

Organes prélevés	Poids de l'organe en grammes	Cr trouvé en mg.	Cr en mg. pour 100 g. d'organes
Estomac (parois)	240	168	70
Estomac (contenu)	165	376,7	—
Intestin (parois)	465	16,06	3
Intestin (contenu)	165	5,55	—
Foie	520	70,75	13
Rate	50	1,39	2,7
Thyroides	1	0,47	47
Cœur (muscles)	97	2,4	2,4
Muscles intercostaux	70	3,68	5,2
Pancréas	35	1,98	5,6
Reins	97	26,65	27
Urine	20	3,90	19
Bile	9	0,78	8,6
Testicules	25	0,36	1,4
Langue	85	16,25	19
Œsophage	40	29,9	74
Vessie	16	0	0
Sang	200	12,5	6
Poumons	160	2,02	1,3

Chez cet animal, comme chez le chien n° 1, les muqueuses stomacales et intestinales ont fixé une quantité importante de bichromate.

S'il y a également beaucoup de chrome dans le foie et les reins comme dans l'expérience précédente, il faut remarquer la teneur élevée des thyroïdes, sensiblement double de celle du rein et triple de celle du foie. L'élimination du toxique s'est faite à la fois par la bile et par les urines. Les poumons ne contiennent qu'une très faible quantité du toxique.

D'une façon générale nous avons retrouvé le toxique dans toutes les glandes endocrines examinées, et par comparaison avec celle des muscles, en teneur relativement importante.

C'est pourquoi, dans les expériences suivantes, nous avons étudié de façon systématique la répartition dans les glandes à sécrétion interne qui, à première vue, tout au moins pour les thyroïdes dans le cas du chien n° 2, semblaient présenter une fixation élective du chrome.

La quantité de chrome retrouvée dans le cadavre a été de 0 g. 719

pour 1 g. 75 de chrome donné à la sonde. Si on admet que le poids du sang est voisin du douzième de celui de l'animal, le chrome fixé dans le sang est de 79 mg.

En fait le chrome retrouvé a été de 0 g. 786 pour la totalité des organes et de 0 g. 193 s'il n'est pas tenu compte du chrome fixé et contenu dans le tube digestif.

Ce dernier chiffre est voisin de celui qui a été retrouvé chez le chien n° 1. Il semblerait donc que la mort se produise, dans les intoxications brutales, lorsqu'il y a une certaine dose de métal fixé sur les organes essentiels. Au delà d'un certain seuil les accidents mortels se produiraient.

Chien n° 3. — A une chienne de 13 kg. 500, on fait prendre par voie buccale, à la sonde, 0 g. 350 de chrome administré sous forme de bichromate. Cette première absorption a eu lieu à 9 h. 15. L'animal est pris de vomissements violents. Ceux-ci contiennent du sang, ainsi d'ailleurs que les matières fécales. A 4 h. 15, nouvelle absorption de 0 g. 70 de chrome ($\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$) suivie d'une autre à 5 h. 30 avec 0 g. 70 de chrome également.

Les symptômes sont analogues à ceux des intoxications précédentes. Le même refroidissement progressif des extrémités est constaté. La respiration est difficile et irrégulière. La mort se produit à 6 h. 15. L'animal a reçu en tout 2 g. 10 de chrome sous forme de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$.

A l'autopsie, l'intestin présente des hémorragies beaucoup plus importantes que dans les deux cas précédents. Le contenu intestinal est formé presque uniquement de sang. Les matières fécales contiennent du sang ainsi que les vomissements et les urines. Le foie présente quelques points hémorragiques, moins nets toutefois que dans les deux autres cas. Le sérum est hémolysé.

Nous avons recueilli les vomissements pour y doser le chrome afin de savoir, par différence, quelle a été la quantité de toxique absorbée réellement.

La présence d'une forte quantité de chrome dans les thyroïdes du chien n° 2 nous a fait penser à rechercher d'une façon systématique s'il n'y avait pas une fixation du toxique sur les glandes endocrines en général.

TABLEAU N° XVIII.

Répartition du chrome dans les différents organes de la chienne n° 3.

Organes prélevés	Poids de l'organe en grammes	Cr trouvé en mg.	Cr en mg. pour 100 g. d'organes
Intestin (contenu)	55	12	—
Intestin (parois)	410	17,66	4
Estomac (contenu)	110	88	—
Estomac (parois)	170	150	80
Plasma	20	0,33	1,6
Globules	60	1,9	3
Matières fécales	410	84	20
Foie	515	112	20
Vessie + urine	17	0,17	1
Ovaires et trompes	10	0,11	1
Cerveau	40	0,34	0,8
Rate	45	0,36	0,8
Thyroïdes	2	0,07	3,5
Hypophyse	0,05	0,38	700
Surrénales	1	0,10	10
Poumons	120	1,08	0,9
Muscles	90	0,36	0,4
Langue	55	0,62	1
Bile	10	0,28	2,8
Reins	80	6,6	8
Cœur	110	0,55	0,5

La quantité de chrome donnée à la sonde était de 2 g. 10. Nous avons retrouvé dans les vomissements 1 g. 360 en Cr. Ceci ajouté au contenu du tube digestif et au chrome trouvé dans les matières fécales, montre que 1 g. 544 de chrome n'a pas été absorbé.

La quantité de chrome absorbée réellement a donc été de : 2 g. 10 — 1 g. 544, soit 0 g. 456 de chrome.

La quantité de chrome contenue dans le sang total est de l'ordre de 30 mg. ; celle retrouvée dans les organes prélevés, le tube digestif mis à part, a été de 123 mg. Ce qui donne au total 153 mg. de chrome fixé sur les organes autres que le tube digestif. Cette quantité est voisine de celles qui ont été retrouvées chez les chiens 1 et 2.

Le chrome retrouvé dans les organes, y compris le tube digestif a été de 0 g. 315. Chiffre également voisin de ceux retrouvés chez les sujets 1 et 2.

Le chrome global retrouvé dans l'organisme, les vomissements et les matières fécales est de 1 g. 859. La quantité donnée à la sonde

avait été de 2 g. 10. Cette faible différence tient à ce qu'il ne nous a pas été possible de recueillir de façon parfaite matières fécales et vomissements, et à ce que nous n'avons pas analysé la totalité des tissus du chien.

Toutefois ces chiffres sont voisins.

De l'examen du tableau XVIII il ressort que le chrome se fixe en fortes quantités sur les glandes endocrines, en particulier sur les thyroïdes, les surrénales et surtout l'hypophyse.

Le foie et le rein contiennent également une forte proportion de chrome, bien en dessous toutefois de celle fixée par l'hypophyse. Ce qui fait l'importance de cette fixation c'est le volume de ces organes.

Le chrome se trouve dans le plasma et les globules, mais en plus forte quantité dans ceux-ci (le double environ).

L'élimination du toxique se fait par l'urine et la bile ; l'élimination par l'intestin sera étudiée plus loin, en administrant le $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ par injection intraveineuse.

Il y a de faibles quantités de chrome dans la substance cérébrale. Les ovaires fixent le chrome ainsi que les testicules, comme il a été constaté chez le chien n° 2. Les poumons ne contiennent que de faibles doses de toxique, il en est de même pour les muscles.

Chien n° 4. — A 12 h., un chien de 8 kg. 900 reçoit à la sonde œsophagienne 0 g. 35 de chrome (sous forme de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$), puis 0 g. 35 à 14 h. 45. A 16 h., 1 g. 05 qu'il vomit presque complètement et enfin 1 g. 75 à 16 h. 30. L'animal a donc reçu 3 g. 50 de chrome à l'état de bichromate mais en a rejeté une forte partie par les vomissements.

Les symptômes d'empoisonnement sont les mêmes que précédemment. Vomissements violents, selles liquides contenant du sang. Présence de sang dans les urines. Vers la fin l'animal présente des accidents respiratoires avec une sorte d'asphyxie. Il y a un refroidissement progressif des extrémités qui s'étend peu à peu.

A l'autopsie, il y a des hémorragies de l'estomac et surtout de l'intestin qui contient du sang. Le foie présente quelques points hémorragiques. Le sang est hémolysé.

TABLEAU N° XIX.

Répartition du chrome dans les divers organes du chien n° 4.

Organes prélevés	Poids de l'organe en grammes	Cr trouvé en mg.	Cr en mg. pour 100 g. d'organes
Estomac.....	62	100,7	160
Intestin (parois)	140	22	15
Intestin (contenu)	35	12,5	—
Foie	245	50,66	20
Urine	15	1,16	7
Poumons	70	2,92	4
Cerveau	68	1,56	2,3
Thyroïdes	0,8	0,15	18
Hypophyse	0,03	0,01	33
Surrénales	1,20	0,10	8
Rate	15	0,22	1,4
Pancréas	18	1,28	8
Plasma	3	0,09	3
Globules	7	0,60	8,5
Bile	5	0,06	1,2
Reins	40	6,4	16
Cœur	65	0,63	0,9
Muscles	48	0,079	0,16

La quantité de chrome contenue dans le sang total est de l'ordre de 45 mg. Le chrome retrouvé dans les organes a été de 234 mg. (y compris le chrome contenu dans le torrent circulatoire) et de 0 g. 112, le tube digestif étant mis à part.

La dose provoquant réellement la mort est donc très faible par rapport à la quantité ingérée (0 g. 112 pour 3 g. 50).

L'examen de la répartition du chrome dans les organes montre, en dehors de la teneur élevée en métal du foie et des reins, une teneur supérieure à celle de tous les autres organes pour l'hypophyse.

L'examen comparé des teneurs en chrome des muscles et des glandes endocrines, indique une fixation spéciale sur ces tissus.

La répartition érythro-plasmatique est environ de 3 parties dans les globules pour une dans le plasma.

L'élimination du toxique a lieu par l'urine et par la bile (par conséquent par les matières fécales).

Il y a également fixation de chrome sur la substance cérébrale, bien qu'en faible quantité. A signaler également la faible teneur du poumon en chrome.

Chien n° 5. — A un chien de 14 kg. 500 on fait prendre à la sonde 3 g. 50 de chrome sous forme de bichromate. L'animal est pris de vomissements qui rejettent une grosse partie du poison. Au bout de quelque temps, l'animal présente de la diarrhée, le sphincter anal est relâché et les matières s'écoulent goutte à goutte. Des contractions abdominales violentes apparaissent, les vomissements sont douloureux. Les réflexes sont presque inexistants (l'animal frappé ne bouge même pas). 35 minutes après la première absorption de chrome l'animal reçoit à nouveau 3 g. 50 de chrome ($\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$).

La bête présente une respiration très irrégulière, avec des temps d'arrêt et des périodes de dilatation maxima de la cage thoracique. La mort se produit 1 h. 10 après la première absorption.

A l'autopsie, l'estomac et l'intestin tout entier présentent des hémorragies très nettes. Le foie et les poumons présentent également des taches hémorragiques.

TABLEAU N° XX.

Répartition du chrome dans les organes du chien n° 5.

Organes prélevés	Poids de l'organe en grammes	Cr trouvé en mg.	Cr en mg. pour 100 g. d'organes
Reins	92	23,33	25
Foie	535	62,33	10
Poumons	195	9,12	4,6
Cerveau	92	0,54	0,6
Rate	43	1,58	3,6
Testicules	24	0,33	1,3
Surrénales	1,5	0,27	16
Thyroides	3,8	0,34	9
Pancréas	26	1,02	3,9
Urine	18	0,36	2
Vésicule + bile	18	0,23	1,2
Cœur	120	0	0
Plasma	60	1,78	2,9
Globules	80	2,99	3,7
Muscles	50	0,21	0,42

La quantité de chrome retrouvée dans les divers organes, le tube digestif exclu, a été de 0 g. 145. Le chrome contenu dans le sang total est de l'ordre de 40 mg.

L'examen de ce tableau montre que l'élimination s'est faite par l'urine et par la bile. Le coefficient érythro-plasmatique est également en faveur des globules rouges, $\frac{1,3}{1}$ environ.

Dans cette expérience, les reins ont une teneur élevée en chrome. L'hypophyse n'a pu être prélevée. Ici encore, les surrénales et les thyroïdes ont une teneur importante en chrome.

Nous n'avons pas retrouvé cette fois de métal dans le muscle cardiaque.

Aux accidents respiratoires constatés chez les chiens 4 et 5 correspond une teneur en chrome du poumon plus élevée que chez les chiens 2 et 3 chez lesquels ces accidents ont été beaucoup plus faibles.

* * *

Ainsi, les intoxications aiguës par voie buccale avec le bichromate de potassium effectuées sur cinq chiens ont donné des résultats concordants.

Les symptômes de l'empoisonnement et les lésions constatées sont en relation directe avec la causticité du sel et ses propriétés émétiques. Vomissements causés par l'irritation des muqueuses, diarrhée, hémorragies de tout le tube digestif. Celles-ci amènent un affaiblissement progressif de l'animal, se traduisant par un état de prostration extrême. Vers la fin il se produit un refroidissement des extrémités avec des accidents respiratoires plus ou moins marqués (respiration irrégulière, avec des temps d'arrêt et des périodes d'amplitude maxima). La mort se produit au bout d'un temps variable sans autre réaction de la part de l'animal.

Les quantités de chrome retrouvées dans les divers organes après la mort sont voisines les unes des autres, bien que les quantités de toxique administrées par voie buccale aient été très différentes. Il semble donc que la mort se produise lorsque l'organisme contient une certaine quantité de toxique (qu'il y ait une sorte de dose maxima à ne pas dépasser pour maintenir la vie).

Voici les quantités retrouvées chez les cinq chiens précédents :

TABLEAU N° XXI.

Quantités de chrome retrouvées dans les tissus des chiens soumis à l'intoxication aiguë par le bichromate de potassium.

	Chrome pris par voie buccale en grammes	Cr retrouvé dans les tissus en grammes	Cr en g. trouvé dans les tissus (tubedigestif à part)	Poids du chien en kg.	Cr en grammes par kg. d'animal
Chien N° I	10,50	0,299	0,201	14	0,014
Chien N° II	1,75	0,377	0,193	15	0,012
Chien N° III	2,10	0,315	0,153	13,500	0,011
Chien N° IV	3,50	0,234	0,112	8	0,014
Chien N° V	7	—	0,145	14,500	0,010

En dehors du rôle fixateur bien connu du foie pour les poisons et du rôle du rein dans l'élimination des toxiques, caractères qui se retrouvent ici, il faut mentionner l'évacuation du chrome par la bile en plus de celle qui se produit par les urines.

Le coefficient érythro-plasmatique de partage du chrome est variable dans les diverses expériences, mais toujours en faveur des globules.

Le rapport : $\frac{\text{Cr dans les globules}}{\text{Cr dans le plasma}}$ a été :

Chez le chien n° 3 de.....	1,87
— n° 4 de.....	2,8
— n° 5 de.....	1,3

Les propriétés tannantes du bichromate permettent peut-être d'expliquer les quantités considérables de métal fixé par les muqueuses stomacales et intestinales.

L'examen des tableaux de répartition du chrome fait ressortir de façon très nette la fixation par les glandes endocrines de quantités de toxique très importantes surtout si nous les comparons à celles fixées dans le muscle.

Voici les rapports entre le chrome fixé par le muscle et le chrome fixé par les glandes endocrines chez les divers chiens :

TENEUR RELATIVE DES DIVERS ORGANES EN CHROME.

Chien n° 1 :

Muscle.....	1	{	Rate	3,2
Foie	12		Pancréas	3,6

Chien n° II :

Muscle.....	1	{	Testicules	0,58
			Rate	1,1
			Pancréas	2,5
Foie	5,4		Thyroïdes.....	19

Chien n° III :

Muscle.....	1	{	Rate	2
			Ovaires	2,5
			Thyroïdes.....	8,7
			Surrénales	25
Foie	50		Hypophyse	1.750

Chien n° IV :

Muscle.....	1	{	Rate	8
			Pancréas.....	50
			Surrénales	50
			Thyroïdes.....	112
Foie	133		Hypophyse	200

Chien n° V :

Muscle.....	1	{	Testicules	3,
			Rate	8,5
			Pancréas.....	9
			Thyroïdes.....	21
Foie	23		Surrénales	38

Parmi les glandes endocrines ce sont les thyroïdes, les surrénales et surtout l'hypophyse qui fixent les plus fortes quantités de chrome. Le pourcentage de toxique fixé dans l'hypophyse a toujours été nettement supérieur à celui du foie.

Nous retrouverons ces caractères, par la suite.

2° INTOXICATION PAR INJECTION INTRA VEINEUSE DE $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$.

Chien n° 6. — A 11 heures un chien pesant 7 kg. 300 est intoxiqué par injection de bichromate de potassium dans la saphène externe de la patte arrière gauche. L'animal a reçu 0 g. 105 de chrome. Quelques instants après l'injection (4 à 5 minutes) l'animal est pris de vomissements, ceux-ci ne contiennent pas d'aliments, l'animal étant à jeun. Ils sont constitués par une sorte de mucus

blanchâtre. Peu de temps après, les évacuations alvines apparaissent.

Au début la respiration est très irrégulière. Une dizaine d'inspirations rapides se produisent, suivies ensuite d'un arrêt de la respiration durant de 5 à 6 secondes. La langue sort longuement de la gueule du chien. La bête est prise de contractions abdominales très violentes qui se calment au bout de dix minutes. Après quelque temps la respiration devient plus régulière.

A 11 h. 40 les vomissements sont colorés en jaune. Ces vomissements coïncident avec des contractions abdominales violentes. Le chien pousse des gémissements plaintifs ; il est dans un état de prostration prononcée et ne répond plus à l'appel. A 11 h. 55 des vomissements semblant contenir du sang apparaissent. Aussitôt après l'animal est pris de frissons ; il continue de gémir. A 12 h. 15 vomissements nettement mélangés de sang. Les frissons sont continuels. A 12 h. 50 apparition de diarrhée (les selles sont complètement liquides). A 13 h. le chien vomit du sang, devient nerveux, s'agite, tire sur sa laisse.

A 12 h. 40 une nouvelle injection de 0 g. 105 de chrome est faite dans la saphène ; on constate immédiatement une irrégularité dans les mouvements respiratoires, puis ceux-ci s'arrêtent brusquement ; la bête vomit une forte quantité de sang et la mort se produit aussitôt.

Peut-être y a-t-il eu embolie ? Toutefois les hémorragies et en particulier la dernière suffisent à expliquer cette mort brusque.

A l'autopsie, le foie est congestionné et noirâtre. Les poumons présentent des taches hémorragiques. La muqueuse de l'estomac est rouge (les hémorragies se sont produites surtout dans la grande courbure). L'estomac contient une très forte quantité de sang. L'intestin présente également des hémorragies dans toute sa longueur. Les matières fécales contiennent du sang de même que le contenu intestinal et les vomissements.

Il y a eu hémorragie cérébrale (présence en différents endroits de petits vaisseaux rompus).

Les reins sont congestionnés, très rouges dans la partie médullaire. Ce caractère est surtout accentué au contact du bassin où il forme un liseré.

TABLEAU N° XXII.

Répartition du chrome dans les organes du chien n° VI.

Organes prélevés	Poids de l'organe en grammes	Cr trouvé en mg.	Cr en mg. pour 100 g. d'organes
Hypophyse	0,02	0,0075	37,5
Surrénales	0,35	0,091	26
Thyroides	1,15	0,198	17,2
Testicules	6	0,264	4,4
Rate	11	0,449	4
Pancréas	11	0,69	6,3
Vomissements	20	0,337	1,68
Urine	10	0,22	2,2
Matières fécales	15	0,12	0,8
Estomac (parois)	58	2,29	4,5
Estomac (contenu)	10	0,34	3,4
Intestin (parois)	205	4,15	2
Intestin (contenu)	22	0,82	3,7
Vessie	3	0,09	3
Reins	21	14,41	68
Cœur	48	3,65	7,6
Sang	50	0,67	1,3
Poumons	60	11,15	18,5
Cerveau	57	0	0
Foie	270	43,56	16,1

Si cette expérience montre qu'il y a eu élimination du chrome par l'urine, il faut aussi noter que l'estomac et l'intestin jouent un rôle dans l'élimination du toxique. En dehors du chrome qui est retrouvé dans le contenu stomacal et intestinal (et qui provient partiellement du chrome se trouvant dans le sang), nous avons caractérisé des quantités de métal dans les parois du tube digestif, bien supérieures à celles trouvées dans les matières qui y étaient contenues.

Ceci prouve évidemment le rôle actif que prennent ces viscères dans l'élimination du toxique.

En dehors de la fixation élective du chrome par les glandes endocrines, en particulier par le groupe : hypophyse, surrénale et thyroïde, retrouvé dans cette expérience également, il faut noter la teneur très élevée en chrome des reins. Ceci concorde avec les lésions constatées dans cet organe.

Alors que les cas d'intoxication buccale n'avaient pas permis de retrouver de fortes teneurs en chrome dans les poumons, ici, au contraire, cette teneur est importante (Nous avons vu précédemment que cet organe présentait des taches hémorragiques très nettes).

Le foie intervient toujours pour fixer une forte quantité du poison. Ici encore sa teneur en métal est inférieure à celle des glandes surrénales, des thyroïdes et de l'hypophyse.

A signaler également la teneur relativement élevée en chrome du muscle cardiaque.

Voici le rapport entre le chrome trouvé dans le sang et celui trouvé dans les glandes endocrines.

Sang	1	{	Hypophyse	29
			Surrénales	20
			Thyroïdes	13
			Testicules	3,3
			Rate	3
Foie	12,3	{	Pancréas	4,8

3° INTOXICATIONS AIGUES PAR INJECTION HYPODERMIQUE DE BICHROMATE DE POTASSIUM.

Chien n° 7. — Un chien pesant 8 kg. reçoit en injection hypodermique à la cuisse gauche 0 g. 210 de chrome (sous forme de bichromate dissous dans 10 cm³ d'eau). L'injection a eu lieu à 10 h. 30. Une minute après l'animal est pris de vomissements. La respiration est haletante. L'endroit d'injection est très douloureux, l'animal est très agité. Les mouvements respiratoires sont très rapides et semblent pénibles. Les vomissements se produisent par intermittence. Après le vomissement, la respiration redevient normale, pour peu de temps toutefois.

La cage thoracique se dilate énormément. Ce caractère a déjà été constaté dans les intoxications buccales par le bichromate de potassium.

Vers 11 h. 20 apparition de diarrhée de couleur jaunâtre. A 13 heures des convulsions se produisent. Le chien aboie, puis hurle. Il semble pris d'étouffement. Il est couché sur le flanc, les pattes antérieures sont agitées de tremblement puis après quelques instants deviennent raides. La tête est prise de soubresauts, elle retombe lourdement sur le sol. Au moment de l'inspiration la trachée est apparente. La gueule s'ouvre largement pour chercher à inspirer le plus d'air possible.

La respiration devient très rapide puis s'arrête pour reprendre avec un rythme accru. L'animal a le corps allongé puis brusquement, après quelques mouvements convulsifs, les pattes antérieures s'allongent en avant, et les pattes postérieures se mettent presque

dans le prolongement du corps. Après quelques essais d'inspirations, l'animal reste immobile.

La respiration est arrêtée. Le cœur continue à battre, quelques instants, puis la mort se produit à 1 h. 30.

L'injection hypodermique de 0 g. 21 de chrome sous forme de bichromate a donc provoqué la mort en trois heures. Ceci représente une quantité de 0 g. 026 par kg. d'animal.

La toxicité du bichromate est loin d'être négligeable, puisque cette dose provoque une mort très rapide.

Ici, l'intoxication a présenté nettement les symptômes d'une asphyxie.

Le bichromate provoque une élévation du taux d'urée sanguine. Celui-ci est passé de 0 g. 25 pour 1000 cm³ avant l'intoxication, à 0 g. 60 après intoxication.

A l'autopsie, l'estomac et l'intestin sont hémorragiques mais beaucoup moins que dans les cas précédents. Les reins sont congestionnés, surtout dans la zone médullaire, à la périphérie et au contact du bassin. Dans le rein droit la médullaire gorgée de sang se confond avec la corticale. Les poumons présentent également des taches hémorragiques.

TABLEAU N° XXIII.

Répartition du chrome dans les organes du chien n° 7.

Organes prélevés	Poids de l'organe en grammes	Cr trouvé en mg.	Cr en mg. pour 100 g. d'organes
Vomissements	6	0,003	0,05
Urine	12	2,32	12,2
Matières fécales	7	0,06	0,85
Salive	4	0,026	0,65
Surrénales	0,35	0,057	16,2
Thyroïdes	0,50	0,092	18,4
Testicules	9	0,14	1,5
Pancréas	11	1,05	9,5
Rate	17	1,63	9,6
Vessie	8	0,18	2,2
Cerveau	60	—	—
Poumons	80	0,71	0,8
Cœur	68	0,65	0,9
Reins	40	11,85	29,6
Muscles (de la cuisse)	50	0,10	0,2
Foie	225	36,4	16,1
Estomac (parois)	50	1,73	3,4
Estomac (contenu)	12	0,76	6,3
Intestin (parois)	140	2,59	1,8
Muscle des flancs	50	0,38	0,7
Sang ?	22	2,68	—

Nous n'avons pas noté le pourcentage en chrome du sang, car nous avons opéré sur un sang conservé à la glacière et qui s'était trouvé desséché.

Dans l'intoxication hypodermique, outre l'élimination par l'urine, le chrome s'élimine par les muqueuses stomacales et intestinales. Les parois de l'intestin et de l'estomac présentent une teneur en chrome beaucoup plus élevée que celle des muscles.

Ici encore il y a fixation élective du chrome par les glandes endocrines (en particulier les surrénales et les thyroïdes).

Voici le rapport entre le chrome fixé dans le muscle et dans les endocrines.

Muscle	1	Surrénales	81
		Thyroïdes	92
		Rate	48
		Pancréas	47,5
		Testicules.....	7,5

Le pourcentage en chrome des thyroïdes et des surrénales est supérieur à celui du foie comme dans les cas précédents.

Il faut noter la teneur très élevée en toxique des reins. Il en était de même dans l'intoxication par injection intraveineuse de bichromate. A cette teneur correspondent des lésions très nettes, citées précédemment.

Chien n° 8. — A 4 h. un chien de 6 kg. 300 reçoit en injection hypodermique à la cuisse droite 0 g. 35 de chrome sous forme de bichromate en solution dans 20 cm³ d'eau. Quelques instants après l'injection se produisent des vomissements fécaloïdes. L'animal hurle par suite de la causticité du produit injecté ; il n'ose pas se poser sur cette patte. Au bout d'un certain temps les douleurs semblent se calmer. Apparition de diarrhée. Les matières fécales s'égouttent goutte à goutte, le sphincter anal ne fonctionnant plus. L'animal est hébété, sa respiration est difficile. Les mouvements respiratoires ont une très grande amplitude. Comme dans l'intoxication précédente les symptômes d'asphyxie sont très nets.

Vers 8 h. la respiration s'arrête, l'animal semble mort, nous pratiquons alors la respiration artificielle, le chien revient à la vie et les mouvements respiratoires reprennent, mais ils sont difficiles. Il y a un refroidissement des extrémités ainsi que dans les intoxications buccales au bichromate.

La gueule s'ouvre largement à chaque inspiration, la trachée devient apparente tout le long du cou, en particulier à la partie supérieure. L'animal a de petits sursauts pour lutter contre l'asphyxie, mais ceux-ci sont moins violents que ceux qui ont été constatés chez le chien précédent où ils avaient le caractère de véritables convulsions.

La respiration s'arrêtant à nouveau, nous pratiquons une deuxième fois la respiration artificielle qui provoque la réapparition des mouvements respiratoires. Nous abandonnons ensuite l'animal à lui-même. La mort survient vers 8 h. 20.

L'estomac est hémorragique, son contenu est teinté en rouge par le sang. L'intestin présente les mêmes caractères, avec plus d'intensité dans les premières portions de l'intestin grêle. Les poumons présentent des taches hémorragiques. Les reins sont congestionnés, plus nettement hémorragiques au contact du bassin. La corticale et la médullaire se différencient difficilement.

La répartition du toxique dans les principaux organes a été la suivante.

TABLEAU N° XXIV.

Répartition du chrome dans les organes du chien n° 8.

Organes prélevés	Poids de l'organe en grammes	Cr trouvé en mg.	Cr en mg. pour 100 g. d'organes
Thyroïdes	0,50	0,17	34
Surrénales	0,40	0,042	10,5
Rate	10,50	0,16	1,5
Pancréas	11	1,31	11,9
Testicules.....	9	0,22	2,4
Cœur	55	1,51	2,7
Sang	28	1,93	6,8
Poumons	65	5,53	8,5
Muscles de la cuisse	50	0,32	0,64
Intestin (parois)	270	1,98	0,7
Estomac (parois)	40	3,04	7,6
Estomac (contenu)	50	2,42	4,8
Reins	35	12,19	34,8
Foie	205	50,3	24,5

Ici encore, en dehors de l'élimination normale déjà constatée dans les urines, le toxique est rejeté par la voie stomacale et intestinale. La présence du chrome dans les parois de ces organes (en

particulier dans l'estomac) en teneur relativement élevée apporte une confirmation de plus aux résultats précédents.

Il y a eu également fixation du chrome en forte proportion par les glandes endocrines comparativement à la quantité retrouvée dans le muscle.

Le rapport des teneurs en toxique de ces divers organes est :

Muscle	1	Thyroïdes	53
		Surrénales	16,4
		Rate	2,3
		Pancréas	18
		Testicules.....	3,7

A noter ici également la teneur élevée en chrome des reins.

* * *

En conclusion, les intoxications aiguës par le bichromate de potassium, aussi bien par voie buccale que par injection intraveineuse ou hypodermique, ont présenté de nombreux points communs, mais aussi quelques divergences que nous allons chercher à expliquer.

Les symptômes d'empoisonnement et les lésions constatées sont en relation directe avec la causticité du sel.

Apparition de vomissements quelle que soit la voie d'introduction et ceci quelques instants seulement après l'administration du bichromate.

Hémorragies du tube digestif, même par injection hypodermique ou intraveineuse, ce qui explique la présence de sang dans le contenu stomacal, intestinal et dans les matières fécales. Diarrhée avec relâchement du sphincter anal. Etat de prostration extrême. Refroidissement progressif des extrémités. Accidents respiratoires plus ou moins marqués suivant les cas. Les poumons présentent des plaques hémorragiques. Les lésions du rein sont bien connues aussi nous ne nous sommes pas étendus sur cette question. Il se produit une élévation du taux d'urée sanguine.

Sur la répartition du chrome dans les divers organes quelques points à signaler.

En dehors de la fixation bien connue du toxique par le foie et les reins, il faut tenir compte du rôle joué par les glandes endocrines et en particulier par les surrénales, les thyroïdes et surtout l'hypo-

physe. Leur teneur en chrome par comparaison avec celle du muscle est énorme.

Aussi peut-on supposer que le chrome intervienne pour modifier leur sécrétion interne et amener ainsi dans l'organisme de graves désordres s'ajoutant aux lésions des principaux organes pour provoquer la mort.

La teneur en chrome des reins est toujours très élevée ce qui correspond aux lésions constatées dans cet organe.

Le coefficient de partage érythroplasmatique est toujours en faveur des globules rouges. Il faut voir ici probablement l'explication des accidents asphyxiques constatés.

En dehors de l'élimination du toxique par l'urine, il faut tenir compte du rôle joué par la bile qui contient toujours du chrome en quantité assez importante ; l'évacuation se fera donc par les matières fécales. Les injections hypodermiques et intraveineuses nous ont permis de constater que les muqueuses stomacale et intestinale intervenaient également pour éliminer le toxique.

D'une façon générale, dans l'intoxication aiguë, le chrome est retrouvé un peu partout, ceci est dû à l'état de saturation de l'organisme, que la technique de dosage, en raison de sa sensibilité, permet de mettre en évidence.

Nous avons constaté quelques divergences dans ces intoxications en ce qui concerne les symptômes finaux de l'empoisonnement.

Dans les intoxications buccales à dose massive la mort semble surtout due aux hémorragies violentes ainsi qu'aux lésions des reins et des principaux organes. Il y a bien des accidents respiratoires mais ceux-ci ne paraissent pas primordiaux.

Dans les intoxications par injection hypodermique et intraveineuse (où il est d'ailleurs fait usage de doses moindres de bichromate) les symptômes qui précèdent la mort sont nettement des symptômes d'asphyxie, puisque par respiration artificielle nous avons pu ramener à la vie un animal dont les mouvements respiratoires étaient arrêtés.

Il n'y a pas discordance absolue entre les faits exposés précédemment.

Dans l'intoxication buccale, les hémorragies du tube digestif sont si graves qu'elles masquent en partie les accidents respira-

toires, la mort se produisant souvent avant que les accidents asphyxiques soient nettement contrôlables.

Dans l'intoxication hypodermique ou intraveineuse, au contraire, les hémorragies sont moins intenses et les accidents respiratoires ont le temps de se développer.

II. — Intoxication aiguë à l'aide de sel chromique (chlorure chromique)

Chien n° 9. — A 15 h. 30 un chien de 10 kg. reçoit en injection hypodermique à la cuisse droite une solution de chlorure chromique représentant 2 g. de chrome. Les sels chromiques s'hydrolysant facilement, cette solution est légèrement acide et l'injection est douloureuse. L'animal pousse des gémissements ; il ne s'appuie pas sur la patte injectée. Il salive énormément (ce caractère a déjà été constaté dans les intoxications aiguës au bichromate).

Des vomissements se produisent. L'animal présente de la diarrhée (l'écoulement des matières fécales se fait goutte à goutte par suite du relâchement du sphincter).

Les symptômes d'intoxication n'apparaissent pas rapidement, l'animal est laissé jusqu'au surlendemain matin sans nouvelle injection. Il présente alors de la paralysie de la patte avec induration à l'endroit de l'injection ainsi que sur toute la périphérie. L'extrémité de la patte est très enflée.

A 11 h., nouvelle injection hypodermique à la même cuisse de 2 g. 50 de chrome sous forme de chlorure chromique en solution dans 20 cm³ d'eau. Une nouvelle injection de 1 g. 25 de chrome dans 10 cm³ d'eau est faite à la cuisse gauche. Vers 15 h. les deux pattes arrière sont paralysées et l'induration a gagné toute la cuisse. A 15 h. une quatrième injection de 2 g. 50 de chrome est faite à la cuisse gauche. Les extrémités des pattes sont complètement froides. Ce chien présente de la conjonctivite accompagnée de suppuration des yeux. L'urine s'écoule goutte à goutte. Le chien complètement apathique, ne peut plus se tenir debout ; il ne gémit même plus. La respiration va en se ralentissant progressivement puis l'animal s'éteint doucement ; la mort se produit à 4 h. 30.

Il a donc fallu une dose relativement considérable de sel chromique pour provoquer la mort. La quantité de chrome injectée a été de 8 g. 25.

A l'autopsie la muqueuse de l'estomac est rosée. Le début de l'intestin grêle est normal ; dans sa portion médiane et terminale, sa muqueuse présente des plaques hémorragiques. Ce caractère est encore beaucoup plus accentué pour le gros intestin dont la partie terminale est colorée en vert. Le foie est normal. Les reins également. Le poumon présente quelques taches hémorragiques.

Les symptômes d'empoisonnement et les lésions n'ont rien de bien caractéristique.

Nous avons constaté la présence dans les urines de pseudo-albumine et d'albumine (2 g. 50 par litre).

La répartition du chrome dans les divers organes est donnée dans le tableau qui suit.

TABLEAU N° XXV.

Répartition du chrome dans les organes du chien n° 9.

Organes prélevés	Poids de l'organe en grammes	Cr trouvé en mg.	Cr en mg. pour 100 g. d'organes
Sang	5	0,97	19,4
Estomac (parois)	62	1,62	2,6
Estomac (contenu)	8	0,229	2,8
Intestin grêle (parois)	160	4,84	3
Gros intestin (parois)	45	4,93	10,9
Contenu intestinal	20	2,62	13,1
Matières fécales	30	38,14	127
Bile	5	0,112	2,2
Cœur	50	0,96	1,9
Muscle	40	0,33	0,8
Hypophyse	0,02	0,0037	18,5
Thyroïdes	1,10	0,032	2,9
Surrénales	1,45	0,14	9,6
Rate	10	1,71	17,1
Pancréas	14	0,38	2,7
Testicules	17	0,229	1,3
Méninges	1,50	0,058	3,8
Poumons	67	5,88	8,7
Cerveau	60	0,021	0,035
Reins	67	10,55	15
Foie	280	20,32	7,2

La présence du chrome a été constatée dans l'urine, mais le dosage n'a pu être effectué en raison de la très faible quantité d'urine dont nous disposions.

L'élimination du chrome se fait également par les muqueuses stomacale et intestinale, principalement par la muqueuse du gros intestin.

La bile joue également un rôle dans l'évacuation du toxique.

On ne retrouve pas dans l'intoxication aiguë au Cl^6Cr^2 un pourcentage aussi élevé de chrome dans les glandes endocrines que celui qui avait été constaté dans les intoxications aiguës au bichromate.

Voici le rapport du chrome fixé dans le muscle avec le chrome fixé dans les glandes endocrines.

Muscle	1	Hypophyse	23
		Thyroides	3,6
		Surrénales.....	12
		Rate	24
		Pancréas	3,3
		Testicules.....	1,6

Dans le cas de l'intoxication par le chlorure chromique, l'élimination du toxique par les matières fécales est prépondérante sur les autres voies d'élimination.

Les reins fixent également dans ce cas une forte quantité de métal ; la teneur du foie est par contre relativement faible.

La quantité de chrome retrouvée dans les divers organes est très faible par rapport à la quantité de chlorure chromique injectée. Le chrome total dosé a été de 94 mg. 07 pour une quantité de 8 g. 25 injectée sous le derme.

Nous avons constaté en effet que la presque totalité du toxique était restée au lieu de l'injection. Les tissus étaient sclérosés ce qui explique que l'absorption ait été très faible et que les symptômes d'intoxication aient été tardifs.

Nous avons cherché à intoxiquer deux chiens par absorption de chlorure chromique par voie buccale. Le premier a reçu 10 g. en chrome de chlorure chromique et le deuxième 15 g. à la sonde œsophagienne. Les vomissements ont été immédiats. Les deux animaux ont présenté de la diarrhée et des contractions abdominales assez violentes, puis se sont rétablis assez rapidement.

La toxicité des sels chromiques à dose massive, par voie buccale, est donc peu accentuée, ceci étant dû, en partie, à leur élimination par les vomissements.

INTOXICATIONS CHRONIQUES

En 1914, LEHMANN [55] concluait à la non-toxicité des chromates et des bichromates ingérés quotidiennement, par voie buccale à faible dose, même lorsque le traitement durait un ou deux ans.

D'autre part, la lecture d'un travail sur les effets toxiques des sels de chrome, dans lequel l'auteur concluait à l'impossibilité d'intoxications chroniques, même par l'absorption d'assez fortes quantités de sel chromique, nous avait incité à vérifier ces faits.

Nous avons vu que l'intoxication aiguë par les sels chromiques est difficile à réaliser. Toutefois, il nous semblait anormal que l'absorption répétée de sels chromiques n'entraîne aucun désordre dans l'organisme. Des expériences sur la toxicité des chromates et des bichromates à dose faible, mais répétées, avait déjà montré les dangers d'une absorption journalière de petites doses de chrome.

Dans ces intoxications, il est difficile d'attribuer les accidents à la causticité du chrome hexavalent. Les quantités absorbées sont si faibles qu'elles ne suffisent pas à expliquer les lésions constatées. Il était alors vraisemblable de supposer qu'il y avait une toxicité due au métal même ; de là à penser que les sels chromiques pouvaient présenter une toxicité du même ordre, il n'y avait qu'un pas à franchir.

Nous avons effectué un premier essai d'intoxication au chlorure chromique par injections hypodermiques répétées.

Intoxication semi-chronique par injection hypodermique de chlorure chromique à un lapin.

A un lapin pesant 2 kg., on injecte sous le derme une solution de chlorure chromique à 0 g. 05 par cm^3 , à raison de 0 g. 20 de chrome chaque fois. L'animal a reçu cette dose les 23, 24, 25 et 26 janvier. A l'endroit de l'injection il y a induration.

L'injection est répétée le 29, puis le 31 janvier, et enfin le 5 février. La mort se produit le 11 février. Le poids était alors de 1 kg. 850, soit une diminution de poids de 150 g. ou 7,50 % du poids primitif.

Le lapin présentait une paralysie des pattes postérieures ; celles-ci étaient rigides et ankylosées. Les derniers temps l'animal ne pouvait plus se déplacer.

A l'autopsie les reins sont mous, la partie médullaire de l'un est congestionnée. Les surrénales sont rondes et gonflées. L'estomac est légèrement hémorragique. Les testicules sont atrophiés. Les tissus à l'endroit de l'injection présentent une teinte verte et de l'induration ; de même que dans l'intoxication aiguë au chlorure chromique, la majeure partie du sel est restée à l'endroit de l'injection (puisque nous avons retrouvé 1 g. 416 de chrome).

Ce premier essai semblait bien prouver la toxicité des sels de chrome, puisque l'injection de 1 gr. 40 de chrome sous forme de chlorure chromique provoquait la mort en 20 jours.

Nous avons étudié la répartition du chrome dans les divers organes. Celle ci est indiquée dans le tableau suivant.

TABLEAU N° XXVI.

Répartition du chrome dans les organes d'un lapin intoxiqué par injections hypodermiques de Cr^{6+} .

Organes prélevés	Poids de l'organe en grammes	Cr trouvé en mg.	Cr en mg. pour 100 g. d'organes
Intestin (parois)	162	0,80	0,5
Estomac (parois)	25	0,185	0,74
Bile	1,50	0,0045	0,3
Urine	33	0,229	0,69
Muscle	27	0,056	0,2
Rate	1,9	0,066	3,4
Surrénales	0,7	0,008	1,1
Testicules	3,4	0,088	2,5
Cœur	12	0	—
Cerveau	8,3	0	—
Reins	16	0,627	3,9
Foie	68	1,53	2,2
Poumons	20	0,121	0,6
Poils	5	0,087	1,7
Os	6,8	0,41	6

Les quantités de métal retrouvées dans les divers organes sont faibles. Nous avons vu que la majeure partie du sel n'avait pas été absorbée par les tissus.

Dans ce cas, également, l'élimination se fait par l'urine, la bile et les muqueuses stomacales et intestinales.

Il n'y a pas une très grande disproportion entre le chrome fixé dans le muscle et le chrome retrouvé dans les endocrines examinées. Le rapport entre les quantités retrouvées est :

Muscle	1	Rate	17
		Surrénales	5,5
		Testicules.....	12,5

Ces résultats sont comparables à ceux constatés dans l'intoxication aiguë au chlorure chromique.

Il est un fait très intéressant à signaler : la présence de chrome dans les poils d'une part et surtout dans les os. Si l'on compare la teneur en métal des os à la teneur du muscle, il y a une très grande différence

Bien que l'intoxication ait duré peu de temps, il y a déjà eu fixation de chrome dans l'os en très forte quantité. Il semble bien que la fixation par les phanères soit une voie générale d'élimination du poison dans les intoxications chroniques.

Cet essai préliminaire nous a conduit à faire des intoxications chroniques au bichromate d'une part, et, aux sels chromiques d'autre part.

Intoxications chroniques par le Cr^{VI} et le Cr^{III} .

Ces intoxications ont été effectuées à l'Institut médico-légal dans les laboratoires de M. le professeur BALTHAZARD, où nous avons eu accès en qualité de Préparateur de l'Enseignement de Toxicologie à l'Institut d'Hygiène industrielle et de Médecine du Travail de la Faculté de Médecine.

Nous avons mis 4 chiens en expérience. Deux étant traités au bichromate de potassium, l'un recevant 1 cg. de chrome, et l'autre 2 cg. par jour.

Les 2 autres chiens étaient intoxiqués au chlorure chromique à raison de 10 et 50 cg. de chrome par jour.

Ces chiens étaient en cages séparées et recevaient une nourriture saine et abondante composée de soupe au pain avec forte proportion de viande. Les animaux ont été tenus dans un état de propreté et de bonne hygiène constant.

Des chiens témoins qui recevaient la même nourriture, sans dérivé du chrome se sont développés normalement.

L'un des chiens intoxiqués au chlorure chromique est mort, en cours de traitement, de pneumonie. Les symptômes d'intoxication n'ayant pas eu le temps de se manifester, il n'a pas été tenu compte de cet animal.

Intoxication chronique au bichromate de potassium par voie buccale.

Chien n° 9 recevant 1 cg. de chrome quotidiennement. — Nous avons utilisé une solution de bichromate de potassium dans l'eau dont $1\text{ cm}^3 = 0\text{ g. }01$ de chrome.

Un cm^3 de cette solution est ajouté chaque jour à la nourriture et on veille à ce que tout soit bien absorbé.

Le poids du chien au début du traitement, le 15 janvier 1934, était de 7 kg. 900. Le 24 janvier le poids a diminué : 7 kg. 400. Il faut probablement attribuer ceci au dépaysement éprouvé par l'animal. Le 3 février le poids est de 7 kg. 900. Le 19, légère diminution : 7 kg. 700 ; puis celle-ci va en s'accroissant, 6 kg. 900 le 25 février. Le 6 mars même poids : 6 kg. 900. L'animal qui jusqu'ici était très gai commence à présenter une certaine paresse. Des abcès apparaissent en divers endroits ; l'un très gros à l'épaule droite et un autre situé à l'extrémité de l'échine au sommet de la cuisse droite. Le 13 mars le poids est tombé à 6 kg. 100. A ce moment nous prélevons du sang pour effectuer un dosage d'urée et de glycémie. Les résultats obtenus sont les suivants :

Urée 0 g. 40 ‰	Dosage effectué à l'hypobromite.
Glycémie 1 gr. 24 ‰	Méthode de Fleury et Marque.

Il y a donc légère hyperglycémie, la dose d'urée étant sensiblement normale.

Le 9 avril, le poids n'est plus que de 5 kg. 300. L'animal va en s'affaiblissant ; l'appétit est toujours bon. L'animal somnole dans un coin et ne répond plus à la voix.

Les abcès qui au début présentaient la forme d'un cratère et suppuraient sont à peu près fermés, mais il subsiste à cet endroit une grosse nodosité.

Le 10 avril, les symptômes d'anémie étant nets, nous prélevons du sang pour effectuer des numérations globulaires et une formule leucocytaire.

Le sang prélevé est très fluide et à peine rosé.

Le nombre de globules rouges est de 1.400.000 par mm³.

Le nombre de globules blancs est de 23.000 par mm³.

La formule leucocytaire a donné :

Polynucléaires	92 %	{	Neutrophiles	85 %
			Basophiles	6 %
			Eosinophiles	1 %
Mononucléaires	8 %	{	Lymphocytes	5 %
			Moyen M.....	2 %
			Grand M	1 %

Il y a donc une hypoglobulie très nette, signe d'une anémie grave. Cette hypoglobulie est accompagnée d'anisocytose, de poikilocytose et de polychromatophilie.

D'autre part, hyperleucocytose très forte accompagnée d'un pourcentage énorme en polynucléaires neutrophiles, signe d'une infection généralisée, ce qui correspond aux abcès que nous avons signalés précédemment.

Ce chien est mort le 11 avril 1934, soit un peu moins de trois mois après le début du traitement. Si nous tenons compte des dimanches où le chien ne recevait pas de bichromate, la dose totale ingérée a été de l'ordre de 0 g. 75 de chrome.

Peu avant sa mort, ce chien était dans un état de maigreur effrayant. Il présentait une paralysie partielle du train postérieur. Il était dans un état de faiblesse extrême. Sa respiration était pénible et bruyante. La sensibilité était diminuée (l'animal piqué ne réagissait même plus).

Il se produisit une conjonctivite avec suppuration. Il fut difficile d'obtenir du sang qui était fluide, à peine rosé (celui-ci sortait à peine à la piqure).

Jusqu'à sa mort le chien a bien mangé.

A noter une perte des poils très nette et une desquamation intense.

A l'autopsie, une dizaine d'heures après la mort le sang n'est pas coagulé dans les vaisseaux.

On constate les symptômes d'une anémie grave déjà mise en évidence par la numération globulaire. Le muscle est de couleur rose pâle. Le foie est normal bien que peu coloré. La rate est à peine colorée (rose).

Le pancréas est de consistance molle et présente des hémorragies. Les reins sont très durs. Les surrénales sont grosses et dures, de couleur grisâtre. Les thyroïdes sont molles et très pâles. Le poumon est exsangue. Le fond est blanc avec une multitude de points noirs.

Le rein présente des hémorragies dans sa partie corticale. La corticale des surrénales est granuleuse et colorée en jaune brun.

Présence dans l'urine d'un dépôt sablonneux.

En résumé, ce sont surtout des symptômes d'anémie accompagnés de lésions du rein et du pancréas et d'une hyperleucocytose grave.

Nous avons effectué l'étude de la répartition du chrome dans les divers organes. Celle-ci est exposée dans le tableau suivant.

Les quantités de chrome qui sont retrouvées sont parfois extrêmement faibles et souvent la seule méthode employée à été la méthode colorimétrique (il ne faut donc pas demander à ce résultat plus que ce qu'une méthode colorimétrique peut donner et s'estimer heureux d'avoir pu déceler le toxique même à l'état de traces infimes

Nous avons calculé la quantité de chrome en γ pour 100 g. d'organes mais sans vouloir tirer des teneurs plus ou moins élevées des divers organes, des conclusions absolues.

Dans l'intoxication chronique au bichromate l'élimination se fait par les urines et par la bile c'est-à-dire par les matières fécales. En dehors de ceci, il faut noter la fixation par les phanères (ongles, poils, dents) d'une certaine quantité de chrome.

Présence de chrome dans les glandes endocrines.

Outre la présence de chrome dans le foie, les reins et les poumons, il faut surtout signaler la présence de chrome dans les os d'une façon générale (os longs, courts ou plats).

Nous n'avons pas retrouvé de métal dans le cerveau alors que nous en avons trouvé dans les intoxications aiguës.

Dans cette expérience, le bichromate semble agir comme toxique non plus par sa causticité propre, puisque nous n'avons pas trouvé

trace de lésions dans le tube digestif, mais plutôt par la toxicité du chrome métal.

TABLEAU N° XXVII.

Répartition du chrome dans les organes du chien n° 9.

Organe prélevé	Poids de l'organe en g.	Chrome retrouvé en γ	Cr en γ pour 100 g. de tissus
Foie	295	472	160
Cœur	80	5	6
Poumons	59	8,1	13
Diaphragme	30	0	—
Reins	58	24	40
Cerveau	50	0	—
Cervelet	15	0	—
Rate	13	5,1	40
Vessie	21	0	—
Pancréas	8	0	—
Muscles	38	0	—
Surrénales	1,55	1,7	100
Thyroïdes	0,55	0,6	100
Hypophyse	0,03	0	—
Ganglions.....	1,50	1,8	120
Testicules.....	9	1,6	17
(Esophage (parois)	20	0	—
Estomac.....	60	66	110
Urine	7	37	500
Bile + vésicule	9	5,6	60
Gros intestin	45	3,9	8
Intestin grêle.....	165	0	—
Poils	20	27,8	130
Dents	12	16	130
Moelle épinière	4,5	0,5	10
Ongles	7	13	180
Côtes	15	20	130
Sternum	8	8	100
Os du crâne	27	22,4	80

Il faut attribuer vraisemblablement les accidents à une destruction des globules rouges ou plus exactement peut-être à un non fonctionnement des tissus générateurs d'hématies. Nous avons dosé le chrome de la moelle osseuse et du tissu osseux lui-même. Pour 2 g. 50 de moelle osseuse nous avons retrouvé 9 γ 5 et pour 2 g. 50 d'os (privé de sa moelle 3 γ 2). Il y a donc fixation en quantité plus importante dans la moelle osseuse.

Ceci expliquerait l'anémie observée par suite de l'altération du tissu de la moelle osseuse, générateur d'hématies, qui se traduit par une anémie grave aboutissant à la mort. De plus, il se produit une infection généralisée (signalons en passant qu'il a été retrouvé

du chrome dans des ganglions prélevés au voisinage des foyers d'infection).

D'autre part, il y a modification profonde du pigment sanguin. Nous avons pu mettre en évidence, grâce à l'emploi du spectrophotomètre, la présence de méthémoglobine dans le sang de ce chien intoxiqué au bichromate.

Chien n° 10 recevant 2 cg. de chrome quotidiennement (sel employé $Cr^2O^7K^2$). — Ce chien reçoit la même nourriture que le précédent mais une dose deux fois plus forte de bichromate.

Le traitement est commencé le 15 janvier ; l'animal pesait à ce moment 11 kg. 100. Il présente un bon appétit. Le 24 janvier le poids est de 11 kg. 800. Le 3 février, même poids. Le 19, également. Le 27 février, très légère diminution, 11 kg. 700. Le 6 mars, 11 kg. 400. Vers cette époque, comme dans le cas précédent, des abcès apparaissent en différents endroits du corps (un sur le flanc droit, un autre sur le gauche et un troisième sur la nuque). Dès ce moment, il y a une perte très importante des poils avec desquamation. Ce caractère n'était apparu, chez le chien précédent, que plus tardivement.

Le 13 mars, l'amaigrissement s'est accentué ; le poids n'est plus que de 11 kg. Nous prélevons du sang pour effectuer divers dosages, les résultats ont été les suivants :

Urée	0 g. 35 ‰
Glycémie	0 g. 93 ‰

D'autre part, nous avons pu caractériser dans ce sang la présence de méthémoglobine, ou plus exactement, le sang étant fluoré, de fluorméthémoglobine, par l'emploi du spectrophotomètre. Nous avons constaté un décalage des bandes, comme celui qui a été signalé récemment par M. R. FABRE et M^{lle} S. BASILE [23].

Le chien ne pèse plus que 8 kg. 800 le 9 avril. Il se produit une chute de poids. Le 11 avril, nous prélevons du sang pour effectuer des numérations globulaires.

Les résultats ont été les suivants :

Globules rouges	810.000 par mm ³
Globules blancs	17.400 —

La formule leucocytaire a donné :

Polynucléaires	80 %	{	Neutrophiles	65 %
			Basophiles	8 %
			Eosinophiles	7 %
Mononucléaires	20 %	{	Lymphocytes	14 %
			Moyens M.	3 %
			Grand M.	3 %

D'autre part, les hématies présentaient les caractères suivants : anisocytose, poikilocytose, et polychromatophylie.

Il y a donc anémie très grave puisque le nombre des hématies est inférieur au million par mm³. D'autre part, il y a un fort excédent de polynucléaires indiquant une infection généralisée, celle-ci s'est traduite par l'apparition d'abcès en différents points. Ces abcès se sont cicatrisés mais à leur place il reste une grosse nodosité. Il y a de plus une hyperleucocytose très nette.

Le 13 avril, nous faisons un prélèvement de sang, celui-ci est très fluide et simplement rosé. Nous avons obtenu :

Urée	1 g. 60 ‰
Glycémie.....	1 g. 29 —

Si nous comparons ces chiffres aux précédents (du 13 mars) nous voyons que la dose d'urée est cinq fois plus forte. Il y a donc urémie très nette. D'autre part, il y a légère hyperglycémie (de 0 g. 93 on passe à 1 g. 29).

Le chien est presque dépourvu de poils. La peau se desquame abondamment.

L'animal éprouve de la difficulté à marcher. Il somnole dans un coin toute la journée, mais l'appétit est conservé.

La mort se produit le 16 avril.

L'autopsie n'est faite que le 18. A cette date le sang n'est pas encore coagulé dans certains vaisseaux. Il n'y a pas de rigidité cadavérique. Le muscle est rosé, signe évident d'une anémie grave. Le tube digestif est normal. La vessie est pleine. Une des surrénales est atrophiée. Le foie est granuleux, avec par endroits des taches plus claires. Le poumon est très pâle ; il présente quelques plaques hémorragiques. Si nous effectuons une entaille à ces endroits et que nous exprimons, il y a apparition d'un liquide abondant. Il y a donc œdème pulmonaire. Le pancréas est très long, de consistance molle ; il présente des hémorragies un peu partout. La rate est peu colorée et les thyroïdes très pâles.

Les reins sont durs et grisâtres ; ils présentent des points hémor-

ragiques à la périphérie de la corticale et un liseré foncé au contact de la médullaire.

L'estomac est grisâtre, sa muqueuse est légèrement rosée par places.

L'autopsie montre donc des symptômes d'anémie grave, accompagnés de lésions du rein, du pancréas et d'œdème pulmonaire.

Les dosages de chrome dans les divers organes ont donné les résultats suivants :

TABLEAU N° XXVIII.

Répartition du chrome dans les organes du chien n° 10.

Organe prélevé	Poids de l'organe en g.	Chrome retrouvé en γ	Cr en γ pour 100 g. de tissus
Poumons	115	27,7	24
Foie	70	423	604
Reins	92	40	44
Cœur	140	0	—
Ganglions	1,35	3,8	280
Testicules	7,5	3,2	42
Surrénales	0,75	1,5	198
Thyroïdes	0,95	9	940
Hypophyse	0,035	0,5	1.420
Rate	25	31,5	126
Pancréas	23	6,6	28
Vessie	25	0	—
Diaphragme	46	6	13
Graisses (epiploon)	50	0	—
Muscles	48	1,4	2,9
Os	20	19,5	97
Cerveau	63	0	—
Cervelet	12	0,3	2,5
Méninges		1,7	
Intestin grêle	250	0	—
Gros intestin	40	2,6	16
Estomac	80	51,6	64
Urine	38	6,3	16
Poils	23	15	65
Dents	7	23,1	330
Sternum	11	15,5	130
Côtes	14	16,4	110
Ongles	7	2,1	30

L'élimination du toxique se fait par l'urine et les matières fécales. Nous avons retrouvé du chrome dans toutes les phanères (dents, ongles, poils).

Les glandes endocrines ont fixé du chrome en quantité plus importante que les autres organes.

A signaler la présence du métal dans les ganglions prélevés au voisinage des abcès.

Le chrome n'est pas fixé par les graisses, ni sensiblement par la matière cérébrale.

Outre la fixation du chrome par le foie, les reins et les poumons, il faut signaler la localisation spéciale dans les os (os plats ou os longs).

Nous avons dosé le chrome de la moelle osseuse d'une part, et le chrome d'un os privé de sa moelle osseuse ; voici les résultats obtenus : Pour 6 g. de moelle osseuse nous avons retrouvé 16 γ de chrome et pour 4 g. 50 d'os 6 γ 5. Il y a donc fixation de chrome dans le tissu osseux lui-même, mais surtout dans la moelle osseuse. Il faut voir dans ce fait, fort probablement l'explication de l'anémie constatée. Il y aurait une altération de la moelle osseuse qui ne pourrait plus effectuer son rôle de générateur d'hématies.

Intoxication chronique par voie buccale au chlorure chromique.

Chien n° 11. — Un chien pesant 9 kg. 100 reçoit chaque jour dans sa pâtée 5 cm³ d'une solution de chlorure chromique représentant 0 g. 50 de chrome. Nous veillons à ce que tout soit absorbé.

Le traitement est commencé le 15 janvier. Le 24 janvier le poids est de 8 kg. 900. Au bout d'une dizaine de jours nous constatons une légère paralysie des pattes postérieures.

Le 3 février diminution de poids : 8 kg. 500. Le 19 février, 8 kg. La paralysie partielle constatée semble disparue. Le 27 février le chien pèse 7 kg. 900.

Vers le 6 mars, l'animal mange peu pendant quelques jours, puis l'appétit réapparaît. Le poids reste stationnaire : 7 kg. 900. Il apparaît une véritable maladie de peau, avec suppuration généralisée sur toute la tête. Il y a perte des poils en forte quantité et desquamation de lambeaux d'épiderme. Le 13 mars, l'animal n'a plus la force de se tenir debout ; il ouvre à peine les yeux. Les mouvements des pattes postérieures sont mal coordonnés.

Le 13, nous effectuons un prélèvement de sang à la saphène. Celui-ci est fluide et peu coloré. Par centrifugation il donne 3 fois $\frac{1}{2}$ plus de sérum que de globules. Ceci correspond à l'anémie constatée.

Nous dosons l'urée et le glucose sanguin. Les chiffres trouvés sont :

Urée	1 g. 55 ‰
Glycémie	1 g. 47 ‰

Il y a donc urémie très nette et hyperglycémie.

L'examen au spectrophotomètre de ce sang nous a permis de mettre en évidence les bandes de la méthémoglobine et d'en construire la courbe d'absorption.

La mort se produit au bout de 2 mois de traitement, le 16 mars ; le poids est alors de 6 kg. 900. Le chien a perdu 24 % de son poids (ce qui est énorme).

A l'autopsie, la paroi de l'estomac est rosée au contact du cardia. L'intestin grêle présente des taches roses hémorragiques en différents endroits. La partie terminale du gros intestin est colorée en vert.

Les poumons sont très pâles (par suite de l'anémie), présence de taches rouge foncé en divers endroits. Il y a une écume blanche dans les bronches. Il s'est produit de l'œdème pulmonaire. Le sang est très fluide et très peu coloré. Il n'est pas coagulé dans les veines ni dans le cœur, bien que la mort remonte à plusieurs heures. Le foie paraît normal bien que peu coloré. Le pancréas est incolore. La rate est petite et peu colorée. Le muscle est rosé.

Les reins semblent normaux.

Il n'y a donc dans ce cas que des symptômes d'anémie avec œdème pulmonaire. La mort est favorisée également par l'urémie et l'hyperglycémie signalées précédemment.

La répartition du chrome dans les divers organes a donné les résultats réunis dans le tableau ci-après.

L'élimination se fait par les urines. L'élimination par les muqueuses stomacales et intestinales ne peut être étudiée dans une intoxication buccale.

Nous avons retrouvé du chrome dans les ganglions lymphatiques. Il n'y en a pas dans les graisses, ni dans la substance cérébrale.

Il y a fixation du métal en quantité plus importante par les glandes endocrines.

Comme dans les intoxications chroniques au bichromate, nous avons caractérisé la présence du chrome dans les phanères (poils, ongles et dents, en plus forte proportion dans ce dernier cas).

Il y a également fixation du chrome par tout le système osseux,

celui-ci se localisant surtout dans la moelle osseuse, ce qui expliquerait la diminution du nombre d'hématies dans le sang des animaux intoxiqués.

TABLEAU N° XXIX.

Répartition du chrome dans les organes du chien n° 11.

Organe prélevé	Poids de l'organe en g.	Chrome retrouvé en γ	Cr en γ pour 100 g. de tissus
Diaphragme	31	0	—
Poumons	135	36	26
Graisses (epiploon)	30	0	—
Ganglions	8	20	250
Vésicule + Bile	7	0	—
Surrénales	1,55	3,2	200
Pancréas	23	7	30
Rate	8	57	700
Hypophyse	0,025	0,9	4.500
Thyroides	0,6	6	1.000
Testicules	4,4	3,9	88
Muscles du cou	37	0	—
Reins	68	158	230
Cœur	134	0	—
Sang	50	41	68
Yeux	13	0	—
Langue	35	0	—
Méninges	0,7	1,5	200
Cervelet	10	0	—
Cerveau	62	0	—
Moelle épinière	6,5	3	55
Muscles (cuisse)	80	0	—
Foie	345	448	128
Estomac (parois)	60	820	1.300
Intestin grêle	240	440	180
Gros intestin	35	—	—
Urine	90	363	400
Peau	32	0	—
Poils	22	14,7	66
Ongles	13	39,1	320
Dents	9,5	230	2.400
Côtes	10,5	79,6	760
Moelle osseuse	7,5	115	1.530
Sternum	4,7	33,1	700
Trachée + Bronches	15	23,7	150

En résumé, dans les intoxications chroniques par voie buccale au bichromate et au chlorure chromique, nous avons constaté des symptômes analogues et des lésions du même genre.

Amalgrissement considérable puisqu'il est :

de 32 % pour le chien à 1 cg. de Cr ($\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$).

de 26 % pour le chien à 2 cg. ($\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$).

de 24 % pour le chien à 50 cg. (Cl^6Cr^2).

Anémie très poussée. Hyperglobulie avec anisocytose, poïkilocytose et polychromatophilie. Présence de méthémoglobine dans le sang. Coagulabilité atténuée ou même supprimée. Hyperleucocytose très nette provenant d'abcès cutanés.

Perte des poils et desquamation. Lésion des reins, se traduisant par de l'urémie. Hyperglycémie coïncidant avec une altération grave du pancréas. Au moment de la mort il y a de l'œdème pulmonaire.

Par conséquent, il semble bien que ce soit la toxicité du chrome métal qui soit en jeu. En effet, les symptômes d'intoxication, les lésions provoquées, la répartition du toxique, les variations de certains facteurs (urée sanguine, glycémie, numération globulaire, formule leucocytaire, etc...) sont superposables dans les intoxications chroniques par voie buccale, par les sels chromiques et les bichromates.

La toxicité du chrome est indéniable, aussi bien pour le Cr^{III} que pour le Cr^{VI} , et il nous semble peu recommandable, ainsi qu'on l'a préconisé dernièrement, d'employer les dérivés du chrome comme fortifiants, dans le genre du fer ou de ses composés.

CONCLUSIONS

I. — Parmi les réactions qualitatives du chrome, seule la réaction à la diphénylcarbazine, nous a donné entière satisfaction. Nous avons montré que son emploi est possible en écartant le trouble dû aux divers métaux se combinant au réactif.

En opérant en milieu sulfurique, seul le Fer peut provoquer une perturbation ; l'addition préalable d'acide phosphorique empêche la combinaison du Fer avec la diphénylcarbazine.

II. — Nous avons établi une technique volumétrique de dosage du chrome hexavalent en solution pure, permettant de doser avec précision des quantités allant jusqu'à $\frac{3}{10}$ de mg.

Cette méthode est basée sur l'action oxydante du chrome hexavalent, en milieu acide, sur le sel ferreux, l'excès de sel ferreux étant titré au permanganate.

En dessous de cette limite, nous avons pu doser des quantités de chrome jusqu'à $\frac{1}{1000}$ de mg. et même moins, en utilisant la réaction colorée donnée par le chrome hexavalent avec la diphénylcarbazine.

Ces deux méthodes de dosage s'adressent au chrome hexavalent.

Nous avons montré que l'emploi de l'eau oxygénée et de la soude d'une part, de l'acide perchlorique ou du persulfate en présence de nitrate d'argent d'autre part, procédés déjà utilisés pour oxyder des quantités importantes de chrome, permettait également, dans certaines conditions, l'oxydation totale du chrome ^{III} en chrome ^{VI} et en particulier de traces de métal de l'ordre du $\frac{1}{1000}$ de mg.

Ces techniques pouvaient donc être appliquées aux recherches de micro-analyse.

Dans le cas de l'acide perchlorique, lorsque le chrome est en milieu sulfurique, nous avons déterminé les conditions de température, de temps de chauffage et de concentration, permettant d'obtenir une oxydation quantitative.

Les techniques de dosage que nous avons adoptées présentent sur les techniques antérieures, l'avantage d'être rapides, simples, d'une grande sensibilité, tout en conservant une exactitude satisfaisante.

III. — La destruction des matières organiques par voie humide, donne lieu à un entraînement du chrome par les vapeurs, dont nous avons étudié l'importance.

Le pourcentage du chrome entraîné pouvant devenir appréciable lorsque la quantité absolue du chrome se trouvant dans l'organe à détruire est assez faible, nous avons déterminé les conditions dans lesquelles, les traces de métal entraîné pouvaient être récupérées. Ceci est effectué en distillant en présence de quelques cm³ d'acide sulfurique pur, le liquide provenant de la condensation des vapeurs émises au cours de la destruction. Dans ces conditions, la récupération peut être considérée comme parfaite.

L'étude systématique du sort du chrome, en milieu acide minéral, a permis de constater, au cours de la distillation, que seul le chrome hexavalent est entraîné en quantité importante ; le chrome trivalent présente, par contre, une remarquable fixité. Ceci nous a permis d'expliquer la relative stabilité du chrome au cours de la destruction ; il se trouve en effet à l'état de sel chromique, même si l'on a utilisé la méthode nitro-perchlorique.

IV. — Nous avons appliqué les méthodes volumétrique et colorimétrique, au dosage du chrome dans les tissus après destruction par les techniques perchloriques, que nous avons systématiquement utilisées.

Un avantage essentiel de ces techniques a été, grâce à la destruction totale des matières organiques, de rendre possible la mise au point du dosage direct sur le résidu même de destruction.

Ceci nous a permis de doser des quantités de chrome de l'ordre du γ , ce qui aurait été impossible s'il avait fallu, au préalable, séparer le métal, ainsi qu'il est pratiqué dans la technique classique.

Par l'emploi des deux techniques de dosage, précédemment décrites, il est possible de retrouver le chrome avec une approximation de 2 à 3 % jusqu'à 0 mg. 5 ; avec une approximation voisine de 5 % de 0 mg. 5 à 0 mg. 01, c'est-à-dire de l'ordre de grandeur

de l'erreur effectuée dans toute lecture colorimétrique. Pour 0 mg. 001 l'erreur est voisine de 10 %.

V. — Dans les intoxications aiguës au bichromate de potassium par voie buccale, hypodermique ou intraveineuse, les symptômes d'empoisonnement et les lésions constatées chez le chien, sont voisines et attribuables en grande partie à la causticité et aux propriétés émétiques du sel.

Quelle que soit la voie d'introduction du toxique, on constate les caractères suivants :

Vomissements, hémorragies du tube digestif, diarrhées, prostration extrême, refroidissement progressif des extrémités. Accidents respiratoires plus ou moins marqués, pouvant être la cause directe de la mort, poumons avec plaques hémorragiques, lésions du rein, se traduisant par une élévation du taux d'urée sanguine.

Sur la répartition du chrome dans les organes, nous avons établi quelques points intéressants.

En dehors de la localisation déjà connue, dans le foie et les reins, il faut signaler une localisation importante dans les glandes endocrines et en particulier dans les surrénales, les thyroïdes et surtout l'hypophyse. Leur teneur en chrome est considérable par rapport à celle du muscle.

La teneur en chrome du rein est toujours élevée. Ceci correspond aux lésions constatées.

Le coefficient de partage érythro-plasmatique est nettement en faveur des globules. Il faut probablement voir ici, l'explication des accidents asphyxiques que présentent les animaux.

L'élimination du chrome a lieu par les urines, la bile et les muqueuses stomacale et intestinale.

Lorsque le bichromate est administré à forte dose, la mort se produit par suite des hémorragies répétées qu'il provoque et que nous attribuons à sa causticité.

Par contre, lorsque le bichromate est absorbé lentement (par voie hypodermique par exemple) et en quantité relativement faible, les accidents hémorragiques sont peu accentués et on constate l'apparition d'accidents respiratoires. Ceux-ci vont en s'aggravant et la mort se produit par asphyxie. Dans ce cas, il semble bien que ce soit la toxicité de l'élément chrome qui soit en jeu.

VI. — Par intoxication aiguë par un sel chromique nous avons

constaté que le chrome trivalent est moins toxique que le chrome hexavalent.

Les symptômes d'empoisonnement ne présentent rien de caractéristique ; vomissements, diarrhée, paralysie de la patte ou a été faite l'injection, refroidissement progressif des extrémités. Mort sans réactions spéciales de l'animal.

Les poumons présentent quelques taches hémorragiques. La muqueuse de l'intestin grêle est hémorragique ; ce caractère est encore plus accentué pour la muqueuse du gros intestin. Il y a apparition d'albumine dans les urines.

Là encore, l'élimination du chrome s'effectue par les urines, la bile et les muqueuses stomacale et intestinale (surtout celle du gros intestin).

La fixation du chrome par les glandes endocrines est supérieure à celle du muscle, mais ce caractère est nettement moins accentué que dans les intoxications aiguës au chrome hexavalent.

VII. — L'étude des intoxications chroniques au bichromate de potassium, nous a montré que le bichromate pris par la voie buccale à la dose de 1 à 2 cg. de chrome par jour était toxique, puisque nous avons avec ces doses, provoqué la mort de deux chiens après un traitement de trois mois environ.

Cette absorption quotidienne de petites doses de bichromate, provoque un amaigrissement considérable après une période plus ou moins longue, pendant laquelle l'animal semble bien supporter le traitement.

Il apparaît des abcès en diverses parties du corps. L'animal s'affaiblit de jour en jour. L'anémie se manifeste rapidement et va en s'aggravant. Il se produit une légère hyperglycémie. Le taux d'urée sanguine s'accroît considérablement peu de temps avant la mort.

A signaler une perte des poils très nette et une desquamation intense de l'épiderme.

A l'autopsie, le muscle est à peine rosé, ce qui correspond à l'anémie très grave signalée ; le pancréas est hémorragique ; le poumon présente de l'œdème pulmonaire et le rein des lésions hémorragiques.

La numération globulaire confirme la gravité de l'anémie. Peu de temps avant la mort, le nombre des globules est tombé de

5.000.000 par mm³ à 1.400.000 dans un cas et à 810.000 dans l'autre. Cette hypoglobulie est accompagnée dans les deux cas, d'anisocytose, de poikilocytose et de polychromatophilie. Il y a, d'autre part une hyperleucocytose très nette, avec excès de polynucléaires neutrophiles, ce qui indique une infection généralisée (ceci correspond aux abcès signalés précédemment).

La coagulabilité du sang est très atténuée.

En outre, nous avons constaté, le pouvoir methémoglobinisant du bichromate pris par voie buccale à dose faible, répétée quotidiennement.

Dans l'intoxication chronique au bichromate, l'élimination se fait par les urines et par les matières fécales, où le chrome est entraîné au moins en partie par la bile.

Il y a fixation en forte quantité du toxique par les phanères (ongles, poils, dents). Les glandes endocrines (en particulier l'hypophyse) fixent le chrome en quantité plus importante que les autres organes. Il y a fixation du métal dans les ganglions lymphatiques.

La rate contient peu de chrome mais, par contre, les os ont une teneur relativement élevée, la fixation se faisant surtout sur la moelle osseuse. Il faut voir dans ce fait, fort probablement l'explication de l'anémie constatée. Il y aurait une altération de la moelle osseuse, qui ne pourrait plus effectuer son rôle de générateur d'hématies.

VIII. — Nous avons constaté dans l'intoxication chronique au chlorure chromique les mêmes caractéristiques que dans l'intoxication chronique au bichromate de potassium : amaigrissement considérable, perte des poils, desquamation de la peau, apparition d'abcès en divers endroits ; anémie allant en s'aggravant et aboutissant à la mort.

Il se produit de l'hyperglycémie. Le taux d'urée sanguine croît considérablement dans les derniers temps.

Le chrome trivalent est methémoglobinisant comme le chrome hexavalent. Il y a de l'œdème pulmonaire comme dans l'intoxication chronique au bichromate.

L'élimination se fait par les urines. Comme précédemment, les glandes endocrines fixent une forte proportion de chrome ; les phanères (poils, ongles, dents) jouent également un rôle important.

Il y a également fixation du chrome par tout le système osseux, celui-ci se localisant surtout dans la moelle osseuse.

En conclusion, l'absorption quotidienne de petites doses de chrome trivalent ou de chrome hexavalent, prolongée suffisamment longtemps, est nettement toxique ; cette absorption provoque une anémie grave avec hyperleucocytose, avec lésions du rein et du pancréas, s'accompagnant d'œdème pulmonaire et aboutissant finalement à la mort.

Vu : le Président de la thèse,

E. TASSILLY.

Vu : le Doyen,

P. GUÉRIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BAYLE (E.) et AMY (L.). — Sur le dépôt électrolytique de traces métalliques et leur caractérisation par l'analyse spectrale. *Bull. Soc. Chim.*, 1928 (4), p. 604-624.
- (2) BAYLE (E.), FABRE (R.) et GEORGE (H.). — Quelques applications de l'analyse spectrographique en chimie biologique. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1927, **7**, p. 1168-1178.
- (3) BÉCOURT et CHEVALIER. — Mémoire sur les accidents qui atteignent les ouvriers qui travaillent le bichromate de potassium. *Ann. Hyg. publ.*, 1863, **20**, p. 83.
- (4) BIANCALANI (A.). — Empoisonnement chronique par le chrome et ses dérivés. *Med. del. Lav.*, 1931, **22**, p. 324 ; *Zentr. f. gewerbehyg.*, 1933, **10**, p. 58.
- (5) BLOOMFIELD (J. J.) et WILLIAM BLUM. — Gesundheitsschaden bei Chromplattierung. *Publ. Health. Reports*, 1928, **43**, p. 2330-47.
— *Chem. Zentr.*, 1929, **1**, p. 122.
- (6) BRANDT (A.). — Affections cutanées par l'emploi de « Chromprotekt ». *Zentr. f. gewerbehyg.*, 1932, **9**, p. 122.
- (7) BRIEGER et BREITBART. — Zur Frage der Wirkung von Säuren auf Blut, Blutbild und blutbildendes Gewebe. *Z. exper. Med.*, 1921, **25**, p. 111.
- (8) CAZENEUVE. — Sur la diphenylcarbazine, réactif très sensible de quelques composés métalliques : Cu, Hg, Fe au maximum, acide chromique. *Bull. Soc. Chim.*, 1900 (3), **23**, 701.
- (9) CONN (L. W.), WEBSTER (H. L.) et JOHNSON (A. H.). — Chromium Toxicology. Absorption of chromium by the rat. *Amer. Journ. Hyg.*, 1932, **15**, p. 760-765.
- (10) COUTURE (M.). — Dosage gazométrique du chrome. *Ann. Chim. Appli-cata.*, 1932 (10), **22**, p. 680-682.
- (11) CUMIN. — *Edinbourg. med. and surg. Journal*. 1828, **2**, p. 137 ; cité d'après Lehmann (55), p. 3.
- (12) DE BONNEFOUX. — Du bichromate de potassium comme antisymphilitique. *Th. Doct. Méd. de Paris*, 1866.
- (13) DELPECH et HILLAIRET. — Mémoire sur les accidents auxquels sont soumis les ouvriers employés à la fabrication des chromates. *Ann. Hyg. publ.*, 1869 (2), **3** ; *Ann. Hyg. publ.*, 1876, **45**, p. 5 et 193.
- (14) DELPECH. — De la fabrication des chromates et de son influence sur la santé des travailleurs. *Bull. Ac. Méd.*, 1863, **29**, p. 289.

- (15) DENIGES (G.), CHELLE et LABAT. — Précis de chimie analytique, t. I, p. 139, 1932.
- (16) DINGWALL et BEANS. — Detection and Determination of Chromium in Tumours. *Amer. J. Cancer*, 1932, **16**, p. 1499-1501.
- (17) DUCATEL. — Du chrome considéré comme poison. *Baltimore. Med. and. Surg. Review*, 1833 (n° 1), p. 44-49, cité d'après Lehmann (55), p. 3.
- (18) DUCATEL. — *Journ. Ch. méd. de pharm. et de Toxicol.*, 1834, **10**, p. 438, cité d'après Lehmann (55), p. 3.
- (19) DUNCAN. — *Edinburgh, Med. and Surg. Journ.*, 1826, **26**, p. 133, cité d'après Lehmann (55), p. 2.
- (20) DUTOIT (P.) et ZBINDEN (Ch.). — *A spectrographic analysis of the ashes of human organs*. C. A. (1930), **23**, 4731 ; C. R. (1930), **190**, p. 172-173.
- (21) ENGELHARDT (W. E.) et MAYER (R. L.). — Cas d'eczéma dû aux composés du chrome, observés dans les arts graphiques. *Arch. Gewerbepathol. u. Gewerbehyg.*, 1931 (n° 1), **2**, p. 148-168 ; *Chim. et Ind.*, 1931 (4), **26**, p. 834.
- (22) EPPLEY (M.) et WARREN VOSBURGH. — The electrometric titration of dichromate with ferrous sulfate. *J. Am. Chem. Soc.* (1922), **44**, p. 2148.
- (23) FABRE (R.) et M^{lle} BASILE (B.). — La Methémoglobine fluorée ; application de son étude spectrophotométrique à la recherche de la Methémoglobine et au dosage des fluorures, présenté *Séance Soc. de Pharm.*, 5 juillet 1933 ; *Journ. Pharm. et Chim.*, 1933 (8), **18**, p. 465.
- (24) FABRE (R.) et M^{lle} GRENU. — Etude de la fixation du chloroforme sur les glandes endocrines. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **116**, p. 278-280.
- (25) FABRE (R.) et KAHANE (E.). — Application de la méthode de destruction nitro-sulfo-perchlorique des matières organiques dans les recherches de toxicologie et d'hygiène. *Ann. Ch. Anal.*, 1933 (2), **15**, p. 49-56.
- (26) FABRE (R.) et M^{lle} RÉGNIER. — Etude de la fixation des dérivés barbituriques sur les glandes endocrines. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **116**, p. 280-281.
- (27) FEIGL (F.) et KRUMHOLZ (P.). — Beiträge zur qualitativen Mikroanalyse von Säuren. Chromsaure. *Mikrochemie. Pregl-Festschrift*, 1929, p. 80.
- (28) FEIGL (F.), KLAUFER (K.) et WEIDENFELD (L.). — Rapid iodometric determination of chrome as chromate in presence of organic substances. *B. C. A.*, 1930, 565 A ; *Ztschr. für anal. Chem.*, 1930, **80**, p. 5-12.
- (29) FISCHER. — Die Darstellung und Verwendung der Chromverbindungen, die dabei entstehenden Gesundheitsgefahren für die Arbeiter und die Massnamen für ihre Bekämpfung. Berlin, 1914, Polytechnische Buchhandlung. A. Seydel.

- (30) FONZES, DIACON. — Méthodes de destruction. *Traité de Toxicologie*, 1930, p. 70.
- (31) FORSBACH et SES COLLABORATEURS. — Uber Chromvergiftungen. *Berl. Klin. Wschr.*, 1919, p. 363.
- (32) FÖRSTER. — Les conditions d'hygiène dans les installations de chromage. *Z. Gewerbehyg. Unfallverh.*, 1929 (10), **16**, p. 291-292 ; *Chim. et Ind.*, 1930 (3), **23**, p. 622.
- (33) GRAHAM-ROGERS (T.). — Trouble de la santé par le chromage. *Bull. Ind. Hyg.*, 1929, **6**, p. 19 ; *Z. für Gewerbehyg.*, 1931, **8**, p. 20.
- (34) GRAMMONT (A.). — Méthodes pratiques d'analyse spectrale pour l'identification des éléments. *Bull. Soc. Chim.*, 1923 (4), **33**, p. 1693-1728.
- (35) HAIRION (M.). — De l'emploi de l'acide chromique dans certains cas déterminés de l'ophtalmie granuleuse. *Journ. Ch. Méd.*, 1859 (4), **5**, p. 373.
- (36) HELLER et KRUMHOLZ. — Nachweis mittels Diphénylkarbazid nach Ueberführung in Chromat. *Mikrochemie*, 1929, **7**, p. 221.
- (37) HILLAIRET. — Les maladies des ouvriers chromateurs. *Bull. Ac. de Méd.*, 1863-1864, **29**, p. 345.
- (38) IBBOTSON (F.) et HOWDEN (R.). — Détermination of chromium in steel. *Chem. News.*, 1904, **90**, p. 320.
- (39) JACOBSON. — Propriétés physiques et thérapeutiques du chromate de potassium. *Arch. génér. de Méd.*, 1833 (2), **3**, p. 304, cité d'après Vulpian (87), p. 215.
- (40) JACQUELAIN. — Sur la décomposition du bichromate de potassium par l'acide sulfurique. Paris, 1847, présenté à l'Académie des Sciences le 15 mars 1847.
- (41) JAILLARD. — De la toxicologie du bichromate de potassium. *Thèse de Doctorat en Pharmacie*. Paris, 1853.
- (42) JAMES (L. H.). — Volumetric determination of chromium and Nickel in same solution. *Ind. a. Eng. Chem. Anal. Edit.*, 1931, **3**, p. 258.
- (43) JUAN DE ANASTIA. — Etudes sur le pouvoir antisypilitique du bichromate de potassium. *Thèse de doctorat en Médecine de Paris*, 1856.
- (44) KAHANE (E.). — Recherche et dosage de l'arsenic des matières organiques après destruction perchlorique. *C. R. Ac. Sc.*, 1932, **195**, p. 48.
- (45) — Dosage du soufre dans le caoutchouc. Un nouveau mélange oxydant. *Caoutchouc et Gutta-percha*, 1927, **24**, p. 13549.
- (46) — Sur la possibilité de détruire des quantités importantes de matières organiques au moyen de l'acide perchlorique. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, **14**, p. 294-305.
- (47) KAHANE (E.) et BRARD (D.). — Application de la méthode nitro-sulfo-perchlorique à l'étude du chrome et du manganèse. *Communication présentée à la séance de la Soc. Chim. biol.* du 20 juin 1933.
- (48) KAHANE (E.) et KAHANE (M.). — Méthode générale de dosage du soufre dans les matières organiques au moyen de l'acide perchlorique. *Bull. Soc. Chim.*, 1934, **1**, p. 290-299.

- (49) KEIJI AKATSUKA et LAWRENCE T. FAIRHALL. — Die Toxicologie des chroms. *Chem. Zentr.*, 1934 (17), **1**, p. 2618 ; *Journ. of Ind. Hyg.*, 1934, **16**, p. 1-24.
- (50) KELLEY et CONANT. — The determination of chromium and vanadium in steel by electrometric titration. *Journ. Ind. a Eng. Chem.*, 1916, **8**, p. 719.
- (51) KNOP (J.) et KUBELKA (O.). — Über Permanganat titration von Eisen mit Erioglaurin A (G) und Eriogrün B (G) als Indikatoren. *Ztschr. für anal. Chem.*, 1929, **77**, p. 125.
- (52) KOHN-ABREST. — Nouveaux documents toxicologiques concernant l'action des poussières industrielles, 1927.
- (53) KOLTHOFF et SANDELL. — Determination of chromium and vanadium after oxidation with potassium bromate. *Ind. a. Eng. Chem. Anal. Edit.*, 1930, **2**, p. 140.
- (54) LANGELEZ. — *Bruxelles Médical*, 6 sept. 1931.
- (55) LEHMANN (K. B.). — Die Bedeutung der Chromate für die Gesundheit der Arbeiter (Kritische und experimentelle Untersuchungen), 1 vol., 119 p., 11 pl. Berlin, J. Springer, 1914.
- (56) — Y a-t-il lieu de redouter particulièrement le cas de cancer pulmonaire chez les ouvriers manipulant les chromates ? *Chim. et Ind.*, 1933, **29**, p. 573 ; *Zentr. Gewerbehyg. Unfallverh.*, 1932, **19**, p. 168-170.
- (57) LICHTIN (J. J.). — Perchloric acid as oxidizing agent in the determination of chromium. *Ind. a. Eng. Chem., Anal. Edit.*, 1930, **2**, p. 126.
- (58) LEMATTE, BOINOT et KAHANE. — Le dosage du soufre total des tissus et des aliments. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, **24**, p. 13549.
- (59) — Dosage des minéraux contenus dans les principaux organes utilisés en thérapeutique. *Journ. Pharm. Chim.*, 1927 (8), **5**, p. 325 et 361.
- (60) LUNDELL, HOFFMAN et BRIGHT. — The analysis of chrome-vanadium steel. *Journ. Ind. a. Eng. Chem.*, 1923, **15**, p. 1064.
- (61) MACKENSIE. — *Annal. des mal. de l'oreille et du larynx*, sept. 1884, cité d'après Rousseau (74).
- (62) MARSHALL (H.). — The detection and estimation of minute quantities of Manganèse. *Chem. News*, 1901, **83**, p. 76.
- (63) MEARS (B) et HUSSEY (R.). — The use of perchloric acid as an aid to digestion in the kjeldahl nitrogen determination. *Journ. Ind. a. Eng. Chem.*, 1921, **18**, p. 1051.
- (64) NEWELL (J.) et MAC COLLUM. — Spectrographic analysis of Marine products. *U. S. Dept. Commerce, Bureau Fisheries. Investigational. Rpt* 1931, **5**, p. 1-9 ; *C. A.*, 1932, p. 13566.
- (65) OGIER et KOHN-ABREST. — *Traité de Chimie toxicologique*, 1924, p. 795.
- (66) OLLIVIER (A.) et BERGERON (G.). — *Nouv. Dict. de Méd. et de Chim. pratique. Art-chrome*, **7**, p. 577 et suivantes, cité d'après Vulpian (87), p. 217.
- (67) OVERTON (S. G.). — Dispositions officielles relatives au chromage par

- électrolyse. *Chim. et Ind.*, 1930 (6), **24**, p. 1361 ; *Chem. Age.*, 1930 (579), **23**, p. 102-103.
- (68) ELSE PETRI. — *Pathologische Anatomie und Histologie der Vergiftungen*. Berlin, 1930. Verlag von Julius Springer. mit 96. Abbildungen, p. 74-77.
- (69) RABBENO (A.). — Sur l'action méthémoglobinisante *in vivo* du chromate et du bichromate de sodium. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1933 (1), **7**, p. 18-21 ; *Chim. et Ind.*, 1933 (2), **30**, p. 375.
- (70) RABBENO (A.). — La toxicité comparée du chromate et du bichromate de sodium. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1933 (1), **8**, p. 21-22 ; *Chim. et Ind.*, 1933 (2), **30**, p. 375.
- (71) RABBENO (A.). — Vergleich der Giftigkeit des Natriummono. und Bichromats. *Boll. Soc. Eustach.*, 1933, **31**, p. 57-58 ; *Chem. Zeit.*, 1933 (13), **2**, p. 2023.
- (72) RASSOW (B.) et WOLF (L.). — Recherches sur la protection contre le chrome. *Chem. Zeit.*, 1931 (8), p. 73 ; *Zentr. f. Gewerbehyg.*, 1932, **9**, p. 94.
- (73) ROSE (A. R.). — A micro-method for determining nitrogen. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, **64**, p. 253.
- (74) ROUSSEAU (H.). — Contribution à l'étude de l'acide chromique, des chromates et de quelques composés du chrome (Physiologie-Thérapeutique et Toxicologie). Paris, in-8°, 1878, V. A. Delahaye et Cie.
- (75) SCHWARTZ (L.) et SIEKE (F.). — Intoxications aiguës produites par les vapeurs d'acide chromique. *Chim. et Ind.*, 1930 (6), **24**, p. 361 ; *Zentr. f. Gewerbehyg. Unfallverh.*, 1930 (8), **17**, p. 232-234.
- (76) SMITH (A. R.). — Empoisonnement chromique, avec manifestation de sensibilisation. *Journ. Amer. Med. Ass.*, 1931, **97**, p. 95 ; *Journ. Ind. Hyg.*, 1931, **13**, p. 259.
- (77) SNODDY (A. O.). — Détection and Determination of chromium in fats. *Journ. Oil. a. Fat. Ind.*, 1925, **2**, p. 20-25 ; *Brit. Chem. Abstr.*, 1926, 285 B.
- (78) SPENCER (G. C.). — A new colorimetric Test for chromium. *Ind. a. Eng. Chem. Anal. Edit.*, 1932 (2), **4**, 245-246 ; *Chim. et Ind.*, 1932, **28**, p. 303.
- (79) SPITALSKY (E.). — Zur katalyse durch Chromsaure und ihre Salze. *Zitsch. Anorg. Chem.* (1911), **69**, p. 179.
- (80) STEFANESCO (V.). — Contribution à l'étude de la Toxicologie de l'Or. *Thèse de Doctorat en Pharmacie de Paris*, 1933.
- (81) STOVER. — Diphenylcarbazide as a Test for Chromium. *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1928, **50**, p. 2363.
- (82) TAYLOR. — Principles and pratic of Medicinal Jurisprudence, 1865, p. 260, cité d'après Lehmann (55).
- (83) TREADWELL (D. W.). — *Manuel de chimie analytique*, 1932.
- (84) TRUMPER (H. B.). — La santé des travailleurs du chrome. *Brit. Med. Journ.*, 1931, p. 705 ; *Journ. Ind. Hyg.*, 1931, **13**, p. 199 ; *Zentr. f. Gewerbehyg.*, 1933, **10**, p. 55.

- (85) URBAIN. — Sur une méthode quantitative d'analyse spectrale. *Bull. Soc. Chim.*, 1930, **47**, p. 674.
- (86) VIRON. — Contribution à l'étude physiologique et toxicologique de quelques préparations chromées, 1885.
- (87) VULPIAN. — Sur l'action toxique et sur l'emploi thérapeutique du bichromate de potassium. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1883, **8**, p. 215 et 321.
- (88) WILLARD et YOUNG. — Persulfat Method for chromium plus vanadium in chrome - vanadium - Tungsten Steels (Modified Procedures). *Ind. a. Eng. Chem.*, 1928, **20**, p. 764-769.
- (89) WILLARD et GIBSON. — Determination of chromium and vanadium in ores and alloys after oxydation with perchloric acid. *Ind. a. Eng. Chem. Anal. Edit.*, 1931, **3**, p. 88.
- (90) WURTZDORF. — Die in Chromatfabriken beobachteten gesundheits-schädigungen und die Zur Verhütung derselben erforderere Massnahmen. *Arbeiten. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt*, 1897, p. 328, cité d'après Lehmann (55), p. 9.
- (91) WURTZ (A.). — Propriétés antisyphilitiques du bichromate de potassium. *C. R. Ac. Sc.*, 1852, **34**, p. 407 ; *C. R. Ac. Sc.*, 1853, **37**, p. 465.
- (92) YOE (J. H.). — Emploi de l'acide perchlorique comme réactif analytique. *Ann. Ch. anal.*, 1925 (2), **7**, p. 193-197.
- (93) ZBINDEN (Ch.). — The infinitely small quantities of certain elements in milk and their detection by the spectrographic method. *Lait*, 1931, **11**, p. 114-123 ; *Chem. Abstr.*, 1911, p. 4032.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	7
Le Chrome en Toxicologie	11
Recherche qualitative du chrome	33
Dosage du chrome	51
Destruction de la matière organique	81
Etude de l'entraînement du chrome au cours de la destruction de la matière organique	95
Techniques de recherche et de dosage toxicologiques du chrome	114
Recherches de toxicologie expérimentale	127
1° Intoxications aiguës	132
2° Intoxications chroniques	155
CONCLUSIONS	169

870. — Imp. de la Fac. de Méd., Jouve et C^{ie}, 15, rue Racine, Paris. — 7-34
